

Aus dem Institut für Pharmakologie der Universität Frankfurt am Main
(Direktor: Prof. Dr. med. P. Holtz)

Versuche über die Wirkung von Cardiazol, Coffein und Theophyllin auf die Blut-Hirn-Schranke und die Permeabilität des Zentralnervensystems.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

der gesamten Medizin

der hohen Medizinischen Fakultät der

Johann Wolfgang Goethe-Universität

zu Frankfurt am Main

vorgelegt von: **Horst Friedrich**

aus Offenbach am Main

Frankfurt am Main 1962

Aus dem Institut für Pharmakologie der Universität Frankfurt am Main
(Direktor: Prof. Dr. med. P. Holtz)

Versuche über die Wirkung von Cardiazol, Coffein und Theophyllin auf die Blut-Hirn-Schranke und die Permeabilität des Zentralnervensystems.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

der gesamten Medizin

der hohen Medizinischen Fakultät der

Johann Wolfgang Goethe-Universität

zu Frankfurt am Main

vorgelegt von: **Horst Friedrich**

aus Offenbach am Main



Dekan: Prof. Herzberg
Referent: Prof. Taubmann
Korreferent: Prof. Fro~~h~~wein
Mündliche Prüfung: 4. VII. 1962

Untersuchungen über die Wirkung von Coffein, Theophyllin und Cardiazol auf die Blut-Hirn-Schranke und die Permeabilität des Zentralnervensystems.

Inhaltsangabe

Einleitung	
I. Entwicklung des Problems der Blut-Hirn-Schranke	1
II. Zusammenstellung der Ergebnisse und Versuchsanordnungen einzelner Versuche verschiedener Autoren	18
III. Versuche an der Blut-Hirn-Schranke mit sulfonierten, lipoid-unlöslichen Farbstoffen	21
A. Versuche mit „Geigyblau 536 med.“ als Schrankenindikator	21
a. Allgemeine Versuchsanordnung und Technik	21
b. Versuche an weißen Ratten in 4 Gruppen mit Cardiazol, Coffein und Theophyllin	21
c. Versuche an der Blut-Hirn-Schranke mit Histamin, Mintacol, Luronase und im O ₂ -Mangel	26
d. Diskussion	
1. Der Farbstoff	28
2. Die Versuchsergebnisse	32
3. Die Faktoren, die der Funktion der Blut-Hirn-Schranke zu Grunde gelegt wurden	37
B. Versuche mit Säurefuchsin als Schrankenindikator	44
IV. Versuche an der Blut-Hirn-Schranke mit nicht sulfonierten, lipoidlöslichen Farbstoffen	46
A. Versuche mit Methylenblau als Schrankenindikator	46
B. Quantitative Versuche mit Neutralrot als Indikator	47
a. Methode	47
b. Versuche an weißen Mäusen in 4 Gruppen mit Cardiazol, Coffein und Theophyllin	48
c. Diskussion	
1. Der Farbstoff	50
2. Die Versuchsergebnisse	52
V. Schlußwort	59
VI. Literaturverzeichnis	60
VII. Lebenslauf	66

Einleitung

Der Stoffaustausch ist neben anderen Eigenschaften ein wesentliches Merkmal der lebenden Zelle. Bei den einzelligen Organismen vollzieht sich der Stoffaustausch direkt zwischen der Zelle und dem umgebenden Milieu. Bei mehrzelligen Lebewesen genügen diese Bedingungen nicht mehr den Anforderungen der einzelnen Zellen. Es werden besondere Einrichtungen für den Stofftransport benötigt. Mit dieser Entwicklung parallel läuft eine zunehmende Differenzierung der einzelnen Zellen. Es bilden sich Organe mit spezifischen Funktionen aus. Notwendig ist mit dieser Differenzierung der Zellfunktion eine Differenzierung der biologischen Affinität dieser Zellen zu bestimmten Substanzen verbunden. So zeigt zum Beispiel das Knochengewebe eine spezifische Affinität zu Kalk. Würden die Zellen des Gehirns die gleiche Affinität besitzen, die Menschen hätten dort, wo sie Gehirn haben sollten, nichts als Knochen.

Von der Zelle aus kann man diese Vorgänge als eine aktive elektive Stoffaufnahme betrachten. Die Zelle wählt sich aus der Fülle der angebotenen Substanzen diejenigen aus, die sie zu ihrem Aufbau und ihrer Funktion braucht. Vom Stoff aus gesehen stellt sich diese Selektionsfähigkeit als eine Blut-Gewebs-Schranke dar, die bestimmte Stoffe nicht oder nur bis zu einer bestimmten Konzentration eindringen läßt.

Diese Blut-Gewebs-Schranke wird um so ausgeprägter sein, je differenzierter das Verhalten der einzelnen Gewebsarten ist. Eines der am höchsten differenzierten Gewebe ist das Zentralnervensystem. Es ist nun nicht weiter verwunderlich, daß die Blut-Gehirn-Schranke so stark ausgeprägt ist.

Besonders im Vordergrund der Betrachtung war diese Blut-Gehirn-Schranke in den Jahren von 1912 bis 1920. Man hatte nämlich erkannt, daß eine Therapie der Metalues und des Tetanus daran scheiterten, daß die Substanzen, von denen man eine Heilung erwartete (Salvarsan, Neosalvarsan, Tetanusantitoxin), nicht in das Gehirn eindringen konnten.

Ziel der Blut-Hirn-Schrankenforschung war es, diese Schranke aufzuheben, um eine echte Therapie dieser Erkrankungen betreiben zu können.

Eine wesentliche Rolle in den Arbeiten über die Blut-Hirn-Schranke spielt der Begriff der Permeabilität. Darunter versteht man das Vermögen einer Substanz, in eine Zelle einzudringen. Sie ist deshalb notwendig mit dem Problem des Stoffaustausches verbunden.

Untersuchungen der Permeabilitätsvorgänge wurden an einzelligen Organismen durchgeführt. Als Indikatoren zur Prüfung der Größe der Permeabilität benutzte man Farbstoffe, da man ihr Auftreten in der Zelle leicht feststellen konnte. Das gleiche Prinzip liegt den Untersuchungen an der Blut-Hirn-Schranke zu Grunde. Man verabreicht dem Versuchstier eine Substanz und prüft ihr Auftreten im Gehirn nach.

In dieser Arbeit sollen 2 Stoffgruppen auf ihr Permeationsvermögen für das Gehirn geprüft werden:

1. lipoidunlösliche, sulfonierte Farbstoffe
(Geigyblau, Säurefuchsin)
2. lipoidlösliche, nicht sulfonierte Farbstoffe
(Methylenblau, Neutralrot)

Zugleich soll versucht werden durch bestimmte Pharmaka (Cardiazol, Coffein, Theophyllin) die Permeabilität des Zentralnervensystems zu verändern, und zwar in dem Sinn, daß erstens Substanzen, für die unter physiologischen Bedingungen eine Blut-Hirn-Schranke besteht, in das Gehirn eindringen können und zweitens Substanzen, die schon unter physiologischen Bedingungen in einer bestimmten Menge in das Zentralnervensystem gelangen, vermehrt in das Gehirn eindringen können.

1. Entwicklung des Problems der Blut-Hirn-Schranke

Es ist das Verdienst Paul Ehrlichs 1), die vitale Gewebefärbung in die experimentelle Pathologie eingeführt zu haben. Auf diesen Erkenntnissen aufbauend entwickelten sich langsam die verschiedenen Forschungsrichtungen mit ihren eigenen Problemen und Fragestellungen. Im Zusammenhang mit der Blut-Hirn-Schranke (BHS) interessiert aber nur eine Richtung, die sich mit den **Permeabilitätsverhältnissen des Gehirns** befaßt.

Im Jahre 1887 erschien eine Arbeit P. Ehrlich's 2) über die „therapeutische Bedeutung der substituierenden Schwefelsäuregruppen“. Ehrlich schreibt darin, daß man um diese Zeit schon die Sonderstellung der Permeabilitätsverhältnisse des Gehirns im Vergleich zum übrigen Organismus kannte, denn es sei den Pathologen aufgefallen, daß selbst bei intensivem Ikterus nur das Zentralnervensystem (ZNS) frei von Verfärbung durch Gallenfarbstoff geblieben sei.

Ehrlich injizierte Kaninchen verschiedene vital färbende Stoffe und beobachtete ihr Auftreten im Gehirn dieser Tiere. Bei diesen Versuchen gelangte er zu folgenden Ergebnissen:

1. Vorwiegend basische Farbstoffe dringen in das ZNS ein und färben dort fast nur die graue Substanz an. Ehrlich erklärte dies dadurch, daß das Gehirn basische Farben deshalb so gut aufnehme, weil diese nur sehr locker an das basische Blut gebunden seien.

2. Farbsäuren könnten deshalb nicht von dem Gehirn **angezogen** werden und es anfärben, weil sie als Säuren zu fest im basischen Blut gebunden seien.

3. Das selbe gelte auch für die Sulfosäuren. Dadurch lasse sich auch erklären, daß durch Eintreten einer $-SO_3$ Gruppe in ein Molekül eine giftige Substanz ungiftig werde, da es ihr nun unmöglich sei, an ihren Wirkort zu kommen, oder wie es Ehrlich sagt: „Eine toxische Substanz kann primär nur die Elemente schädigen, an die sie gelangt und von denen sie aufgenommen wird.“

Wie noch gezeigt wird, ist es erstaunlich, mit welcher Präzision Ehrlich damals im wesentlichen den funktionellen Teil der BHS beschrieben hat.

Im Jahre 1900 injizierte Lewandowsky 3) seinen Versuchstieren eine Ferrocyanatiumlösung intravenös oder direkt in den Liquor. Er stellte fest, daß nach intravenösen Gaben von Ferrocyanatium, im Gegensatz zur Injektion in den Liquor, keine Krämpfe auftraten. Daraus folgerte er, daß bei intravenösen Gaben von $Na_4 FeCy_6$ dieser Stoff nicht in das ZNS gelange, da sonst, wie bei der Liquorinjektion, Krämpfe auftreten müßten. Er benutzte also das Auftreten von Krämpfen als Indikator dafür, daß die injizierte Substanz in das ZNS gelangt sei.

In Analogie zu den Versuchen Lewandowsky's steht die im Jahre 1913 veröffentlichte Arbeit Goldmann's 5). Goldmann hatte seinen Versuchstieren Trypanblau intravenös injiziert und festgestellt, daß Gehirn und Rückenmark (RM) vollkommen weiß blieben, der Plexus chorioideus und die übrigen Körperorgane sich stark blau verfärbten. In einem zweiten Versuch injizierte er den Farbstoff direkt in den Liquor seiner Versuchstiere. Dabei stellte er fest, daß sich die Basis des ZNS sowie der Nervus opticus und das RM anfärbten, der übrige Körper aber ungefärbt blieb. Daraus zog Goldmann den Schluß, daß das Gehirngewebe, wie er im zweiten Versuch gezeigt habe, nicht das Eindringen der Farbe verhindern könne. Da sich auf dem Blutwege der Plexus chorioideus mit Trypanblau anfärbe, nicht aber das Gehirn, der Plexus chor. also die Farbe nicht durchlasse, so müsse er der Sitz der BHS sein. Diese Folgerung ist umso

verständlicher, als man seit den Versuchen Lewandowsky's glaubte, das Gehirn werde vom Plexus chorioideus aus über den Liquor ernährt.

Diese Versuche Goldmann's wurden, soweit sie die Anfärbung des ZNS betrafen, 1915 von Woolsey 8) bestätigt.

Man glaubte also, seit Ehrlich folgende Grundlagen über die BHS zu haben:

1. Daß zwischen dem Blut und dem Gehirn eine Schranke bestehe, die nur bestimmte Substanzen in das ZNS gelangen lasse.

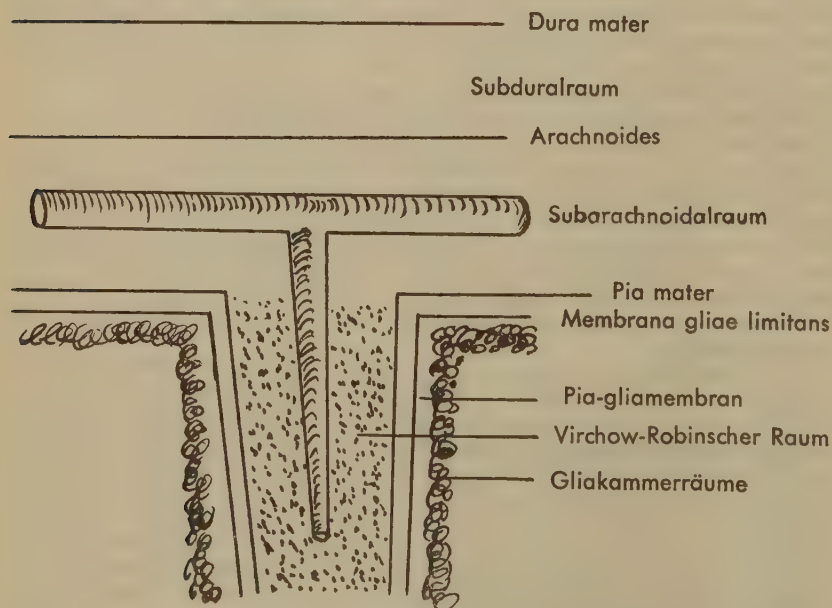
2. Der Sitz dieser Schranke sei im Plexus chorioideus zu suchen.

3. Das Gehirn werde vom Blut aus durch den Plexus chorioideus über den Liquor cerebrospinalis ernährt.

4. Deshalb müßten alle Stoffe, die in das ZNS gelangten, diese Schranke passieren.

Goldmann legte den Sitz der BHS in den Plexus chor. Er machte damit ein morphologisch erkennbares Substrat für den funktionellen Ablauf der Schrankenwirkung verantwortlich. Andere Autoren untersuchten, in wie weit diese Schrankenfunktion an bestimmte Zellen des Plexus chorioideus gebunden sei. In der nun folgenden Zeit wurden nacheinander verschiedene Strukturen für diese Schrankenfunktion verantwortlich gemacht, wie z. B., das Ventrikependym, der Virchow-Robin'sche Raum, die Membrana gliae limitans, die Meningen, die Histozyten des reticulo-endothelialen Systems (R. E. S.) 9) und die Gehirnsubstanz selbst.

So spricht Monakow 10) von einem Apparat aus Plexus chorioideus, Ventri-



Skizze 1

kelependym und Glaschirm, der zum Fernhalten schädlicher Substanzen vom ZNS diene.

Ebenso spricht Stern und sein Mitarbeiter 11) den Plexus chorioideus als den Sitz der BHS an. Sie nehmen an, daß das ZNS vom Liquor ernährt wird, sodaß Farben dann in das ZNS gelangten, wenn sie einmal in den Liquor eingedrungen seien.

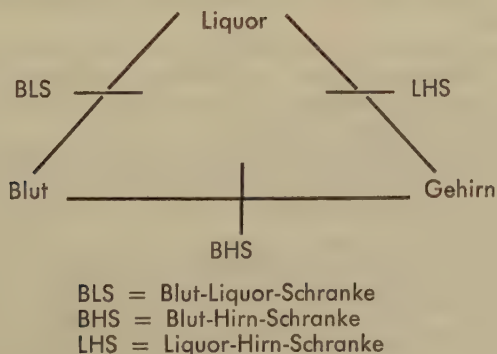
Auch Hauptmann 12), Gärtner 13) und Hauptmann und Gärtner 14) gehen von der Ansicht aus, daß der Weg in das ZNS nur über den Liquor führe und sehen den Sitz der Blut-Hirn-Schranke in dem Plexus chorioideus plus Meningen und in einer Membrana gliae, da nach Zerstörung dieser Membran Trypanblau in das ZNS gelange.

Gärtner und Held 15) finden, daß die BHS speziell in der Membrana gliae limitans Held's 16) lokalisiert sei.

Diese Anschauungen über den Sitz der BHS erfuhren eine grundlegende Änderung durch die Arbeiten von Walter 17) 18) 19), Kafka 20) und Spatz 21).

Ungefähr bis 1930 glaubte man, daß das Zentralnervensystem vom Liquor aus ernährt werde. Da man jedoch die trennende Schranke zwischen Blut und Gehirn (BHS) noch vor den Liquor verlegte, konnte man auch ebensogut von einer Blut-Liquor-Schranke (BLS) sprechen. Dies heißt, daß Blut-Hirn-Schranke (BHS) und Blut-Liquor-Schranke (BLS) identisch waren. Eine weitere Schranke wurde zwar noch zwischen dem Liquor und dem Gehirn vermutet, die Liquor-Hirn-Schranke (LHS), da Stoffe, obgleich sie im Liquor nachweisbar waren, nicht im Gehirn angetroffen wurden. Diese Schranke wurde nie so recht anerkannt, da manche Autoren die Glimembran und die Pia mater mit zu der BHS rechneten.

Walter, Spatz und Kafka behaupteten zum erstenmal, was uns heute selbstverständlich ist, daß das ZNS direkt vom Blut über die Hirnkapillaren ernährt werde, da die Ernährung des Zentralnervensystems mit Eiweiß- und Fettbausteinen vom Liquor aus schwer verständlich sei, denn diese Stoffe fehlten im Liquor, sodaß Stoffe in das ZNS gelangen könnten, ohne vorher im Liquor zu erscheinen. Das heißt, daß nun neben der Liquor-Hirn-Schranke noch eine viel wichtigere vom Liquor unabhängige Schranke besteht, nämlich die eigentliche Blut-Hirn-Schranke (BHS). Es ist das Verdienst Walter's, dies erkannt und formuliert zu haben.



Skizze 2

So schreibt Walter 18), daß das ZNS durch die Hirnkapillaren ernährt werde. Da jedoch Stoffe vom übrigen Körper aufgenommen würden, die nicht in das ZNS eindringen könnten, so müsse auch zwischen Blut und Gehirn ein Mechanismus sein, der diesen Zutritt regele. „Diesen Mechanismus habe ich als Blut-Hirn-Schranke bezeichnet“. Jedoch glaubt Walter, daß sich die Blut-Hirn-Schranke nicht nur an einer Struktur manifestiere, sondern das Ergebnis der Funktionen verschiedener Substrate sei, wie z. B.

1. Hirnkapillaren
2. Pia-gliamembran
3. Zellmembran
4. chem. Struktur der Membranen.

Spatz 21) hingegen machte fast ausschließlich das Gefäßendothel für die Schrankenwirkung verantwortlich, und zwar ganz allgemein, sowohl für die BHS als auch für die BLS, da er bei seinen Versuchen nie eine Anfärbung des Endothels der Hirngefäße sah, während sich im übrigen Körper auch die Gefäße anfärbten.

Diese Anschauungen von Spatz über den Sitz der BHS, haben sich zum Teil bis heute als gültig erwiesen und werden von den meisten Autoren dahingehend anerkannt, daß das Gefäßendothel ein wesentlicher Bestandteil des morphologischen Substrates der BHS darstellt.

So fand z. B. Eich und Wiemers 22), daß nur ein Gefäßschaden die BHS für Trypanblau durchgängig machen kann. Und wie Becker und Quadbeck 23) nimmt er an, daß die BHS vorwiegend im Endothel der Gefäße lokalisiert sei, zumal Niessing 24) später nachgewiesen hat, daß die Kapillaren des ZNS direkt und ohne Zwischensubstanzen mit dem Gehirn kommunizieren.

Quadbeck und Helmchen 25) gehen in ihren Anschauungen noch weiter, indem sie die BLS noch mit zur BHS rechnen, da die Zusammensetzung des Liquors von der interzellularen Flüssigkeit des Zentralnervensystems bestimmt sei. Das heißt, daß der Liquor in erster Linie von dem ZNS produziert werde und nicht, wie man früher annahm, nur durch eine sekretorische Leistung des Plexus chorioideus, sodaß Veränderungen in der Zusammensetzung auf Permeabilitätsänderungen im Bereich des ZNS beruhten. Neben der Schrankenwirkung des Gefäßendothels im ZNS sei für den funktionellen Ablauf des Schrankengeschehens vielleicht doch sowohl eine sekretorische Leistung des Plexus chorioideus, wie auch eine ultrafiltrierende Leistung im Bereich der Meningen anzunehmen, denen sie jedoch untergeordnete Leistungen im Gesamtgeschehen zuschreiben.

Ebenso wie um die Frage nach dem Sitz der Blut-Hirn-Schranke, bemühte man sich um die Frage nach dem funktionellen Geschehen an dieser Schranke. Eine scharfe Trennung zwischen der Morphologie und der Funktion der BHS kann natürlich nicht gezogen werden.

So führte Ehrlich 2) die Unfähigkeit von sauren und sulfonierten Substanzen, in das ZNS einzudringen, auf ihre starke Bindung an das Blut zurück, wogegen nicht so stark an das Blut gebundene basische Farbstoffe leicht in das ZNS einzudringen vermögen.

Morgenstern und Birjukoff 26) glaubten, daß auch die Konzentration der Stoffe im Blut eine wesentliche Rolle für das Eindringen in das ZNS spielen.

Krebs und Wittgenstein 27) nahmen an, das Eindringvermögen von Stoffen in das Gehirn hänge ab von dem Dispersitätsgrad und der elektrischen Ladung der permeierenden Stoffe, sowie von der Beschaffenheit der semipermeablen Membran der BHS und dem Milieu zu beiden Seiten der Membran, sodaß sich

Handowsky und Uhlenbruch 39) zeigten bereits die Permeabilität steigernde Wirkung von Coffein an ultrafiltrierenden mit Eiweiß beladenen Membranen. Mit Hilfe von Coffein und Theophyllin gelang es Fröhlich und Zak, vermehrt Substanzen, ja selbst solche, die nicht schrankenfähig waren, in das ZNS zu bringen.

Mendel und Walter 40) nehmen an, daß das Problem der BHS ein reines Adsorptionsproblem und kein Membranproblem sei. Es gibt nach ihrer Meinung im ZNS keine Schranke und der injizierte Stoff kann alle Zellen erreichen. Jedoch widersetzen sich die Zellen des ZNS einigen Farbstoffen, wogegen andere Stoffe elektiv von ihnen adsorbiert werden.

Interessant ist es, im Zusammenhang mit der Arbeit von Mendel und Walter 40), eine Arbeit von Henning 41) zu lesen. Bei mikroskopischen Untersuchungen am lebenden Tier stellte er fest, daß saure Farbstoffe im Fundus des Magens durch Drüsenzellen in das Gewebe und von da durch Kappillaren in das Blut gelangen, wogegen das Antrum bis auf das interstitielle Gewebe ungefärbt bleibt. Basische Farben sollen im Fundus und Antrum elektiv nur Deckepithel und Leisten anfärben, was durchaus für eine Adsorption an Zellen spricht.

Hoff und Silberstein 42) sehen das Schrankenproblem am ZNS wieder als ein Permeabilitätsproblem und versuchen mit Hilfe von Euphyllin das nicht schrankenfähige Tetanusantitoxin in das ZNS zu bringen. Ebenso versuchten sie es mit Insulin, da Loewi 43) eine permeabilitätssteigernde Wirkung für Insulin nachgewiesen hatte.

Hans Hoff 44) nimmt zusätzlich noch eine Mitwirkung von Leber und Niere bei den Schrankenversuchen an. Durch Inhalation gelang es ihm, unter Umgehung des Leberkreislaufes, Hg=, As= und Jodsalze in das ZNS zu bringen. Dies gelingt kaum bei intramuskulären und intravenösen Gaben, da der Großteil dieser Salze von der Leber abgefangen und dort nachweisbar wird.

Stern und seine Mitarbeiter 45-54) sahen wieder die Permeabilität als Grundlage des funktionellen Geschehens an der Blut-Hirn-Schranke an. Dabei fanden sie jedoch unterschiedliches Verhalten von Kolloiden und Kristalloiden. So gehen, im Vergleich zu den Kristalloiden, Kolloide vermehrt in das ZNS nach:

1. Veränderung der Ionenkonzentration im Blut
2. Thyreoidektomie
3. Kastration
4. Vergiftung mit CO=, SH 2= und HCN-Gas
5. Fütterung von Schilddrüse bis zur Vergiftung
6. Gaben von Urotropin.

Dagegen gelangen, im Vergleich zu Kolloiden, Kristalloide vermehrt in das ZNS nach:

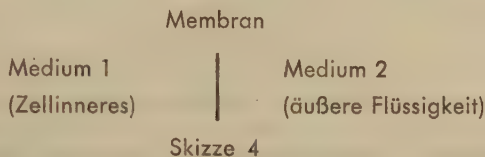
1. pH-Steigerung des Blutes
2. Fütterung mit Schilddrüse
3. Erhöhung oder Verminderung des osmotischen Druckes im Blut.

Zeitlin und Gazmann 55) fanden aber auch nach Steigerung und Verminderung des osmotischen Druckes im Blut gleiches Verhalten und vermehrtes Übertreten von Kristalloiden und Kolloiden in das ZNS.

Walter 17—19), der die gedankliche Trennung zwischen der Blut-Hirn-Schranke und der Blut-Liquor-Schranke vollzogen hatte und mit Hilfe der von ihm entwickelten Bromidmethode die Permeabilitätsverhältnisse der Blut-Liquor-Schranke geprüft hatte, bestätigte weitgehend die Ergebnisse von Krebs und Wittgenstein 27). Nur verneinte er einen Stoffaustausch am ZNS, der sich streng nach dem Donnan'schen Gleichgewicht vollziehe, da man auch noch mit einer

physiologischen Permeabilität rechnen müsse. Wenn sich nämlich der Stoffaustausch streng nach physikalischen Gesetzen richte, dann müsse die Konzentration des Zuckers in dem Blut und in dem Liquor sich wie 1 : 1 verhalten, wogegen das Verhältnis von 1 : 0,6 nachgewiesen worden sei.

Der Stoffaustausch zwischen Blut und ZNS sei demnach von 2 Medien und einer Membran abhängig.



Zwar könne eine Erhöhung der Membranpermeabilität einen erhöhten Übertritt von Substanzen bewirken, wobei jedoch noch wesentlich sei, ob die chemische Konstitution des Nervenparenchyms eine Affinität zu dieser Substanz besitze.

Spatz 21) legt dem Geschehen an der BHS und der BLS wieder Permeabilitätsvorgänge zu Grunde. Dabei findet er für saure Substanzen eine Abhängigkeit ihres Eindringvermögens in das ZNS von ihrem Dispersitätsgrad. Eine Abhängigkeit von dem Adsorptionsvermögen des ZNS lehnt er ab.

Die Dispersität der einzelnen Stoffe prüfte er wie Schmid 56) an ihrem Diffusionsvermögen in Gelatine und fand ein zunehmendes Diffusionsvermögen bei abnehmender Teilchengröße der Substanzen (s. Tab. 1).

Nach Injektionen in den Liquor sollen grundsätzlich alle Farben das ZNS anfärben, und zwar bis zu einer Tiefe, die dem Eindringvermögen in Gelatine entspricht.

Bei der intravenösen Applikation findet Spatz:

- a) Für grobdisperse anodische Farben eine absolute BHS.
- b) Für semikolloidale Farben eine weitgehende Dichtigkeit der BHS. Nur bei chronischen Gaben oder bei hoher Dosierung dieser Substanzen, werde auch hier die BHS überschritten. Jedoch findet Spatz nach Gaben von Trypanblau entzündliche Erscheinungen an den Meningen, die er als Trypanblaueningitis bezeichnet.

c) Für diffusible saure Farben ein Überschreiten der BHS unter physiologischen Bedingungen, entgegen den Befunden von Ehrlich 2).

d) Für alle basischen Farben grundsätzlich ein Überschreiten der BHS. (Tab. 2).

Das heißt also, daß das Eindringen anodischer Farben in das ZNS allein von ihrem Dispersitätsgrad abhängig ist.

Diffusionsfähigkeit von Farbstoffen, geprüft in Gelatine 25%.

Fluorescein	10,0 mm in Gelatine eingedrungen
Eosin	7,0 mm in Gelatine eingedrungen
Methylenblau	4,0 mm in Gelatine eingedrungen
Prune pure	3,5 mm in Gelatine eingedrungen
Toluidinblau	3,0 mm in Gelatine eingedrungen
Trypanblau	1,0 mm in Gelatine eingedrungen

Tabelle 1
(nach Schmid 56))

1. grobdisperse anodische Farben (Tusche)
 2. semikolloide saure Farben (Trypanblau)
 3. kolloidale basische Farben
 4. diffusible saure Farben
 5. diffusible basische Farben
- Zunehmendes Diffusionsvermögen von 1—5

Tabelle 2
(nach Spatz 21))

Friedemann 57) und Friedemann und Elkeles 58-62) injizierten ihren Versuchstieren intravenös verschiedene saure und basische Farbstoffe und beobachteten ihr Auftreten im Zentralnervensystem. Friedemann 57) konnte zeigen, daß sowohl basische wie saure Farbstoffe in das ZNS einzudringen vermögen. Die kleinste, das ZNS färbende Dosis (M. St. D. = Minimal Staining Dosis), lag für basische Farbstoffe zwischen 1,0 und 7,0 mg/300 gr Meerschweinchen. Dagegen traten, im Vergleich zu basischen Farbstoffen, saure Farben erst bei wesentlich höheren Dosen in das ZNS über, nämlich bei Gaben von 20,0—80,0 mg/300 gr Meerschweinchen. (Umgerechnet auf Kilogramm beträgt dies für basische Farben 3,3 — 23,3 mg/kg, für saure Farben 66,6 — 266,6 mg/kg.)

In Erweiterung zu den Veröffentlichungen Ehrlich's, konnte Friedemann selbst diejenigen basischen Farben im ZNS nachweisen, die Ehrlich nicht im Gehirn nachweisen konnte. Diese unterschiedlichen Ergebnisse führt Friedemann auf den Unterschied in der Applikationsart zurück. Ehrlich habe die Farbstoffe seinen Versuchstieren subcutan injiziert, wobei ein Teil der gut lipoidlöslichen basischen Farbstoffe vollkommen vom subcutanen Gewebe adsorbiert worden seien. Die Lipoidlöslichkeit von Substanzen, die Ehrlich als Vorbedingung für das Auftreten im ZNS angesehen habe, spiele jedoch im Gegensatz zu subcutanen Injektionen bei der intravenösen Applikation keine Rolle. Bei intravenösen Gaben von Substanzen sei allein ihre elektrische Ladung für das Übertreten in das ZNS verantwortlich, sodaß die unterschiedlichen Ergebnisse bei Friedemann und Ehrlich, soweit sie basische Farben betrafen, in der unterschiedlichen Injektionsart zu sehen sind. Ehrlich's Theorie, daß basische Farben leicht in das ZNS gelangen, ist damit von Friedemann bestätigt worden.

Im Gegensatz zu Ehrlich fand Spatz, daß auch leicht diffusible saure Farben das ZNS anfärbten, nicht jedoch Kolloide, wie z. B. Trypanblau.

Friedemann wiederholte diese Versuche mit sauren Farben und stellte fest, daß auch saure Kolloide wie Kongorot, Wasserblau und Trypanblau (M. St. D. = 133 mg/kg) in das ZNS eindringen. Das heißt, er fand kein unterschiedliches Verhalten in Bezug auf das Zentralnervensystem zwischen Kolloiden und Nichtkolloiden, da die Poren des Endothels größer als die Teilchengröße der Kolloide seien.

Deshalb sei das Übertreten von Substanzen in das ZNS unabhängig von deren Lipoidlöslichkeit, wie Ehrlich gefunden hatte, und ebenso nicht von deren Dispersitätsgrad, wie Spatz beschrieb, und ihrer chemischen Konstitution, sondern allein von der elektrischen Ladung, wobei die Anfärbung des ZNS zum Teil noch von der chemischen Affinität des Nervenparenchyms zu diesen Substanzen beeinflusst werde. Bei bestehender Affinität des Zentralnervensystems zu einer Substanz und bei einem pH von 7,35 des Blutes, ermögliche und begünstige eine positive Ladung der Substanz, beziehungsweise das Fehlen einer negativen Ladung, den Übertritt in das ZNS. Das Gegenteil jedoch hindere die

Substanzen, in das Gehirn einzutreten.

Broman 63—67) nimmt an, daß das Zusammenwirken von mehreren Faktoren für das funktionelle Geschehen an der BHS verantwortlich sei und schlägt vor, besser von einem Blut-Hirn-Schranken-System (BHSS) zu sprechen. In seinen Arbeiten untersucht er einige Arbeitshypothesen, in wieweit sie Faktoren des BHSS darstellten. So zum Beispiel:

1. Die Theorie von dem Mangel an Affinität des ZNS zu bestimmten Substanzen.
2. Die Abbautheorie, die besagt, daß das ZNS bestimmte Farben abbauen könne, sodaß sie nicht optisch nachweisbar seien.
3. Die Theorie vom spezifischen Schrankeneffekt der Nerven = und Gliazellmembranen.

Nach intravenösen Gaben von Trypanblau habe man festgestellt, daß sich nicht mesodermale Zellen schlecht anfärbten, dagegen andere Organe, die reichlich Bindegewebe enthielten, eine ausgesprochene Affinität zu sauren Farbstoffen zeigten. Außerdem sei bekannt, daß Farben, gleich ob sie basischen oder sauren Charakter hätten, an Eiweiß adsorbiert würden. Da der Liquor eiweißarm sei, besitze er keine Bindungsmöglichkeit für das saure Trypanblau und erscheine stets ungefärbt. Ebenso sei die Adsorptionsfähigkeit des ZNS gering, da es nicht mesodermaler Herkunft sei, und stets ungefärbt erscheine.

Es sei bekannt, daß Methylenblau sehr gut von der Gehirnsubstanz entfärbt und abgebaut werde. Broman untersuchte darauf Trypanblau, indem er es mit Gehirnbrei in eine Thunberg-Röhre gab. Es folgte keine Entfärbung.

Seinen Versuchstieren injizierte Broman 35—100 ccm/kg Trypanblau 1% i. v. (= 350 — 1000 mg/kg), also in wesentlich größeren Dosen als Friedemann 57), ohne eine Anfärbung des Zentralnervensystems zu sehen. Um Affinitätsfaktoren des Blutes auszuschließen, durchspülte er postmortal die cerebralen Gefäße mit 0,5% Trypanblau in Gummityrode 15—30 Minuten lang. Auch hier zeigte sich das ZNS ungefärbt.

Für feindisperse saure Farbstoffe, wie z. B. Eosin und Fluorescein, sei das BHSS bei hoher Blutkonzentration dieser Stoffe durchgängig.

Im allgemeinen sei jedoch unter physiologischen Bedingungen das BHSS für saure Farben undurchlässig. Dieses Verhalten des BHSS werde weder durch Grenzschichten noch durch das Ionen = und Kolloidmilieu auf beiden Seiten der Schranke verursacht, sondern vor allem sei die Kapillarwandung unter Mitwirkung der Gliamembran für das funktionelle Geschehen verantwortlich zu machen, welche die Rolle einer kolloidimpermeablen Membran spielten. Auch sei die elektrische Ladung der Testsubstanzen zu beachten, da elektropositives Kobragift leicht in das ZNS eindringe.

Spiegel E. A. und Spiegel A. M. 68) 69) befassen sich in ihren Arbeiten mit zentralen Krampferscheinungen und finden Beziehungen zu Permeabilitätsänderungen des Zentralnervensystems. So sollen Faktoren, welche die Permeabilität steigern, auch eine gesteigerte Erregbarkeit des ZNS bewirken. Das heißt, die Permeabilität verhält sich umgekehrt proportional zur Polarisation des ZNS. Dies dürfte mit der Theorie der elektrischen Erregungsleitung übereinstimmen, die besagt, daß die Erregungsleitung einhergeht mit einer fortlaufenden Depolarisation des Membranpotentials, wobei Permeabilitätsänderungen auftreten können 70). Spiegel E. und Spiegel M. finden ein Absinken der Polarisation und ein Zunehmen der Permeabilität nach Asphyxie, nach Gaben von Aqua destillata, hypo = und hypertonen Lösungen. Saure Lösungen bewirkten diesen Effekt nicht.

Fürst 71) fand jedoch eine Verminderung der Entzündungsbereitschaft nach Säurezufuhr. Diese entzündungshemmende Wirkung von Säuren scheine auf einer Permeabilitätsverminderung zu beruhen. Somit wäre gut verständlich, daß basische Substanzen im Vergleich zu sauren Stoffen die BHS viel leichter überschreiten, da sich saure Substanzen, durch ihre Membranen abdichtende Wirkung den Weg in das ZNS selbst verlegen.

Für diese Theorie würden die Ergebnisse von Campailla 72) und Prados y Such 73) sprechen, denen es gelang, Trypanblau nach mehreren Cardiazol=, Monobromcampfer= und Coraminkrämpfen in das ZNS zu bringen, wobei anzunehmen ist, daß die Krämpfe eine Erhöhung der Gehirnpermeabilität auslösten.

Goldhammer und Marburg 74) nehmen an, daß die BHS für Elektrolyte und molekular gelöste Substanzen durchgängig sei, nicht jedoch für Kolloide.

Sie versuchten nun, Kolloide mit Substanzen in Verbindung zu bringen, von denen bekannt war, daß sie die BHS durchdringen. (z. B. Urotropin und kolloidales Silber = Argotropin; Dextrinsilber, argentum lysalbinicum.) Aber auch diese Substanzen waren nicht fähig, für sich allein die Blut-Hirn-Schranke zu überschreiten, sondern vermochten erst in Verbindung mit Gaben von hyper-tonischen Zuckerlösungen in das ZNS einzudringen.

Trypanblau konnte weder mit Euphyllin noch unter Cardiazolkrämpfen in das ZNS gebracht werden. Dies gelang jedoch mit hypertotonischer Zuckerlösung, mit Monobromcampfer= und Novocainkrämpfen. Auch nach großen tödlichen Dosen, soll Trypanblau allein die BHS überschreiten.

Nachtblau, ein positives und Kongoblau, ein negatives Kolloid, seien nicht im ZNS nachweisbar. Daraus ergebe sich, daß ihren unterschiedlichen Ladungen, in Bezug auf ihr Eindringvermögen in das ZNS, keine Bedeutung zukomme, sondern nur der Tatsache, daß sie Kolloide seien.

Bauer und Leonhardt 75) glauben nachgewiesen zu haben, daß Geigyblau ein feinerer Schrankenindikator sei als Trypanblau. Mit Hilfe dieses Farbstoffes gelang es ihnen, einen Schrankenbruch nach Cardiazolschock nachzuweisen. Jedoch sei die Schrankenläsion durch Cardiazol geringer als durch Meningitis und Ultraschall 76).

Bauer, Haase und Leonhardt 77) und Leonhardt 78) untersuchen die Dosis-Wirkungsbeziehung des Cardiazols und finden eine Schrankenschwellendosis, die zwischen 10 und 17 mg/kg Cardiazol liegt. Nach Gaben von Cardiazol mit Ascorbinsäure verminderte sich die Intensität der Anfärbung des ZNS mit Geigyblau. Verhindert werde der Schrankenbruch mit Cardiazol durch Gaben von Pernocton und durch chronische Infektionen in der Peripherie der Versuchstiere. Auch Megaphen verhindere einen Schrankenbruch im Cardiazolschock, wobei im Gegensatz zu Pernocton die Krämpfe kaum vermindert seien.

Pentschew 79), der die BHS mehr von der Pathologie des Zentralnervensystems aus sieht, betont noch einmal das unterschiedliche Verhalten der Kapillaren des Gehirns, die man als den Sitz der BHS ansehe, gegenüber den Kapillaren des übrigen Organismus. Gifte wie Phosgen und Salvarsan, welche die Hirnkapillaren schädigten, übten kaum eine toxische Wirkung auf die Kapillaren des Körpers aus. Das umgekehrte Verhalten könne für Histamin und Allylformiat nachgewiesen werden.

Ganz allgemein könne gesagt werden, daß vorwiegend Hypoxydase erzeugende Stoffe die BHS leicht schädigten. Die einzelnen oxydationshemmenden Gifte hätten sogar unterschiedliche Praedilektionsstellen als Angriffspunkte im ZNS. So wirkten Phosphor, Phosgen, Phalloidin und Salvarsan toxisch durch

Erzeugung eines Hirnoedems und einer Hirnpurpura; Thiophen schädigte elektiv die Kleinhirnrinde und Dysenterietoxin elektiv die Vorderhornzellen des Rückenmarkes.

Erkrankungen des Zentralnervensystems, die mit Permeabilitätsänderungen einhergehen und ein Oedem oder eine Purpura im Gefolge haben, faßt Pentschew unter dem „klinischen Begriff des akuten Versagens der BHS“ zusammen.

Wiewohl die Genese des akuten Versagens der BHS noch im Dunkeln liege, so könne doch gesagt werden, daß die meisten zum Zusammenbruch der Schranke führende Toxine oxydationshemmend wirkten. Diese Hypoxydose könne verschiedene Ursachen haben, wie z. B. Allergien oder gastrogene und hepatogene Faktoren wie bei der Wernicke'schen oder Wilson'schen Krankheit.

Ausfall	Wirkstoff	Hypoxydose d. ZNS
hepatogener gastrogener	Antihypoxidin Vitamin B 1	Wernicke'sche Krankheit
hepatogener	Antihypoxidin	Wilson'sche Krankheit

Skizze 5
(nach Pentschew 79)

Albert 80) befaßt sich in ihrer Arbeit mit der Wechselwirkung zwischen Gehirn und Leber. Sie zeigt, daß Leberstörungen durchaus als Ursache für Gehirnerkrankungen zu betrachten sind. Auch könne die Leber einen O₂-Mangel des ZNS bewirken. Da die BHS so stark auf O₂-Mangel reagiere, könne man annehmen, daß die Aufrechterhaltung der Funktionen der Blut-Hirn-Schranke einen stark energieverbrauchenden Prozeß darstelle.

Eich und Wiemers 81) ist es, im Gegensatz zu anderen Autoren, nicht gelungen, die BHS im schwersten akuten O₂-Mangel für Trypanblau zu durchbrechen. Zum Teil färbten sich die Gehirne bei Versuchs- und Kontrolltieren an, zum Teil erschienen sie weiß. Diese Pseudoanfärbung des ZNS führen sie auf Farbembolien und ungenügende Spülung der Gehirngefäße zurück, da sich an den verfärbten Stellen noch Blutreste fanden.

Ebenso gelang es nicht, die BHS nach CO-Vergiftung, Histamin=, Milchsäure = und Alkoholgaben für Trypanblau zu durchbrechen.

Auch eine Durchströmung mit Trypanblau 15—20 Min. postmortal erzeugte keine Anfärbung des ZNS. Nur durch eine Schädigung des Endothels der Kapillaren konnten sie eine Anfärbung des ZNS mit Trypanblau erreichen, sodaß man das Endothel als Sitz der BHS ansehen darf.

Wiemers, Maurer und Niklas 82) zeigten, daß die BHS im akuten O₂-Mangel auch nicht für radioaktives Thorium passierbar ist. Es wird eine Thoriumbindung an das Bluteiweiß vermutet, die im O₂-Mangel noch verstärkt werde.

Versuche von Stern und Marshall 83) zeigten nach traumatischen, eitrigen und ischämischen Veränderungen einen im Vergleich zur Norm erhöhten Übertritt von radioaktivem Phosphor P³² in das ZNS.

Koch, Bohn, Heiß und Schneider 84) untersuchten an Meerschweinchen die Giftwirkung des Penicillin auf das Gehirn. Der Blutspiegel betrug nach der Injektion von 80 000 E/kg Penicillin 400 E/ccm wogegen im ZNS nur 0,06 E/gr Hirn nachweisbar waren. Daraus konnte man schließen, daß für Penicillin eine BHS besteht. Erst bei Gaben von über 80 000 E Penicillin werde die BHS undicht und es komme zu Krämpfen. Dagegen erzeugten bei intracerebralen Gaben schon kleine Penicillingaben Krampfbilder.

Auch Kelentei 85) findet, daß Penicillin unter physiologischen Bedingungen die BHS nicht überschreiten kann. Dagegen passiere Penicillin die BHS nach Adrenalingaben, cervikaler Ganglienblockade, nach Vorbehandlung mit Hyaluronidase oder Histamin.

Eichhorn O. 86 und 88) betrachtet in einer Arbeit die Probleme der BLS, der LHS und der BHS.

Für die BLS findet er, daß zwar das Donnan'sche Gleichgewicht integrierend für den Stoffaustausch zwischen Blut und Liquor sei, daß aber auch physiologische Faktoren eine wesentliche Rolle spielten. Dies zeige schon die unterschiedliche Verteilung von Magnesium in Blut und Liquor, die dem Donnan'schen Gleichgewicht nicht entspreche.

Versuche an der LHS zeigten, daß die Durchtränkung des ZNS von der Dispersität der Substanz abhängt. Die Schranke selbst bestehe in der unterschiedlichen elektrischen Ladung von Gehirn (elektropositiv) und Liquor (elektronegativ). Die Bedeutung der LHS bestehe vielleicht darin, daß man Stoffe unter Umgehung des Blutweges in das ZNS bringen könne. Er befaßt sich in einer anderen Arbeit 87) ausführlich mit diesem Problem. Die Ergebnisse seien jedoch etwas enttäuschend. Einige in den Liquor injizierte Stoffe gelangten viel schneller nach intravenösen Gaben in das ZNS, wobei an eine Rückresorption in das Blut zu denken sei, sodaß die Medikamente erst sekundär vom Blut aus in das ZNS gelangten.

Die Funktion der Blut-Hirn-Schranke ergebe sich zum Teil aus dem Verbrauch des ZNS an Kolloiden, die nicht die Blut-Liquor-Schranke passieren könnten. Auffallend sei die selektive Eigenschaft der BHS, die einerseits grobdisperse Kolloide durchtreten lasse, andererseits semikolloide Stoffe zurückhalten könne. Eichhorn schreibt den verschiedenen Hirngebieten, entsprechend ihren unterschiedlichen Funktionen, verschiedene spezifische Zelleistungen zu, sodaß die BHS in 2 Funktionskreise zerfällt.

1. eine generelle Schrankenfunktion der trennenden Schichten (z. B. Gefäßendothel, unterschiedliche elektrische Ladung).

2. Eine differente Schrankenfunktion, da die Selektionsfähigkeit der Zellen in verschiedenen Zellgruppen verschieden sei (z. B. eine Schranke für Kristalloide, die Kolloide passieren lasse).

Von praktischem Interesse für diese Schranken sei:

1. Die Möglichkeit einer Verminderung der Durchlässigkeit, um schädliche Substanzen fernzuhalten.

2. Die Möglichkeit einer Steigerung der Durchlässigkeit, um bessere therapeutische Möglichkeiten für Erkrankungen des ZNS zu erhalten. (s. Zusammenstellung.)

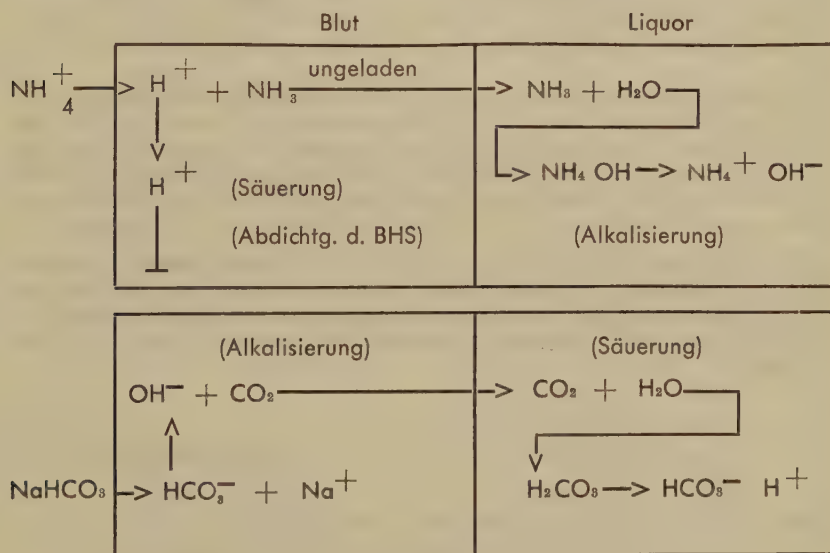
Mit dem Einfluß der Gehirnerschütterung auf den Stoffwechsel und die Permeabilitätsveränderungen des ZNS beschäftigten sich Gerlach und Becker 109), Quadbeck und Randerath 111), Quadbeck und Helmchen 112) und Hallervorden und Quadbeck 113).

Gerlach und Becker 109) fanden nach gedecktem stumpfem Schädel-Hirntrauma, mit Pendel ausgelöst, einen Übertritt von Astraviolett FF und Astraviolett FD in das ZNS. Unter physiologischen Bedingungen überschreitet der Farbstoff die BHS nicht. Als Ursachen der Schrankenstörung werden Gefäßregulationsstörungen, besonders in den Versorgungsgrenzgebieten der Arterien, mit Hypoxydose und Gewebssäuerung einhergehend, angenommen. Es sei auch denkbar, daß die Anfärbung erst postmortal erfolge, da in den Kapillaren, die durch das Trauma betroffen seien, die Farbe nicht ausgespült werden könne.

Quadbeck und Randerath 111) zeigten an Ratten, daß nach einem Schädeltrauma weniger Methylenblau in das ZNS übertritt als es der Norm entspricht. Sie führen dies nicht auf eine Abdichtung der BHS zurück, sondern erklären dies so: Methylenblau könne nur in der reduzierten Form als Leukomethylenblau in das ZNS eintreten. Ein Schädeltrauma löse aber eine Stoffwechselstörung aus, durch die das Reduktionsvermögen des Blutes verringert werde, so daß weniger Methylenblau in die schrankenfähige Leukoform übergeführt werden könne.

Nach Zusatz von Ascorbinsäure zu Methylenblau, trete beim traumatisierten Tier die gleiche Farbmenge in das ZNS über wie beim normalen Tier, da die Ascorbinsäure die ausgefallene Reduktionswirkung des Blutes übernehme. Im Blut selbst fanden sich nach einem Schädeltrauma erhöhte Methylenblauwerte. Für eine posttraumatische Erniedrigung enzymatischer Vorgänge spreche auch ein gesteigerter Übertritt von Methylenblau nach Steigerung der Stoffwechselvorgänge mit 2,4-Dinitrophenol.

Winterstein H. 114) zeigte, daß eine Blutacidosis stets eine gleichzeitige Alkalisierung des Liquors und eine Abdichtung der BHS zur Folge habe und findet, daß die intakte BHS weder für OH^- noch für H^+ -Ionen permeabel sei 115).



Skizze 6
(nach Winterstein 114))

Quadbeck und Helmchen 112) untersuchten den Übertritt von radioaktivem Phosphor ^{32}P in das ZNS nach schwerer Gehirnerschütterung und fanden einen erhöhten Übertritt. Eine zusätzliche Steigerung des Übertritts nach einer Commotio erhielten sie nach Gaben von Rutin, während Ammoniumchlorid den Übertritt von ^{32}P verringerte. Ob Phosphat als freies anorganisches Ion oder nach Veresterung als organisches Phosphat vom Blut in das ZNS übertrete, sei nicht bekannt. Nach einer Veresterung wäre für Phosphor zu erwarten, daß eine Störung im Kohlenhydrathaushalt den Übertritt in das ZNS beeinflussen werde. Nach Gaben von 2,4 Dinitrophenol zur Erhöhung des Stoffwechsels bleibe aber die Permeabilität für ^{32}P in das ZNS unbeeinflusst.

Becker und Quadbeck 23) finden eine Undurchlässigkeit der Blut-Hirn-Schranke für Ionen saurer und basischer Farbstoffe. Basische Farbstoffe können durch die BHS wandern, wenn sie

a) unter physiologischen pH-Bedingungen wenigstens teilweise in lipoidlösliche Anhydro- bzw. Pseudobasen übergehen, die keine Ionenstruktur besitzen, und aus denen jenseits der Schranke die Kationen des Farbstoffes zurückgebildet werden.

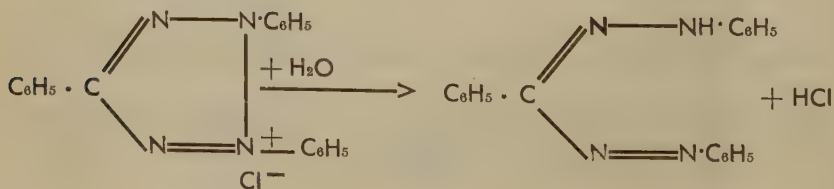
b) durch reduzierende Fermentsysteme zu lipoidlöslichen Leukobasen hydriert werden, die als solche die Schranke durchwandern und im Gehirn wieder dehydriert werden. Lipoidunlösliche Leukoverbindungen (z. B. Leukalaktoflavin) permeieren nicht.

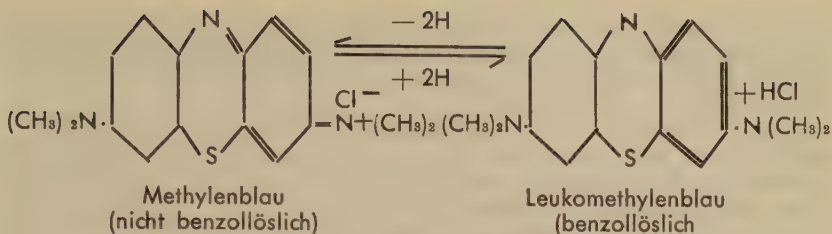
Eine durch Sulfo-Gruppen ($-\text{SO}_3-$) bedingte BHS ist unter physiologischen Bedingungen unüberwindlich.

Die Permeabilität der BHS lasse sich jedoch durch pH-Änderungen beeinflussen, wobei pH-Erniedrigung auf der Hirnseite (=Säuerung) oder eine pH-Erhöhung auf der Blutseite (=Alkalisierung) die BHS-Permeabilität steigern. pH-Änderungen im umgekehrten Sinne hätten eine die BHS abdichtende Wirkung.

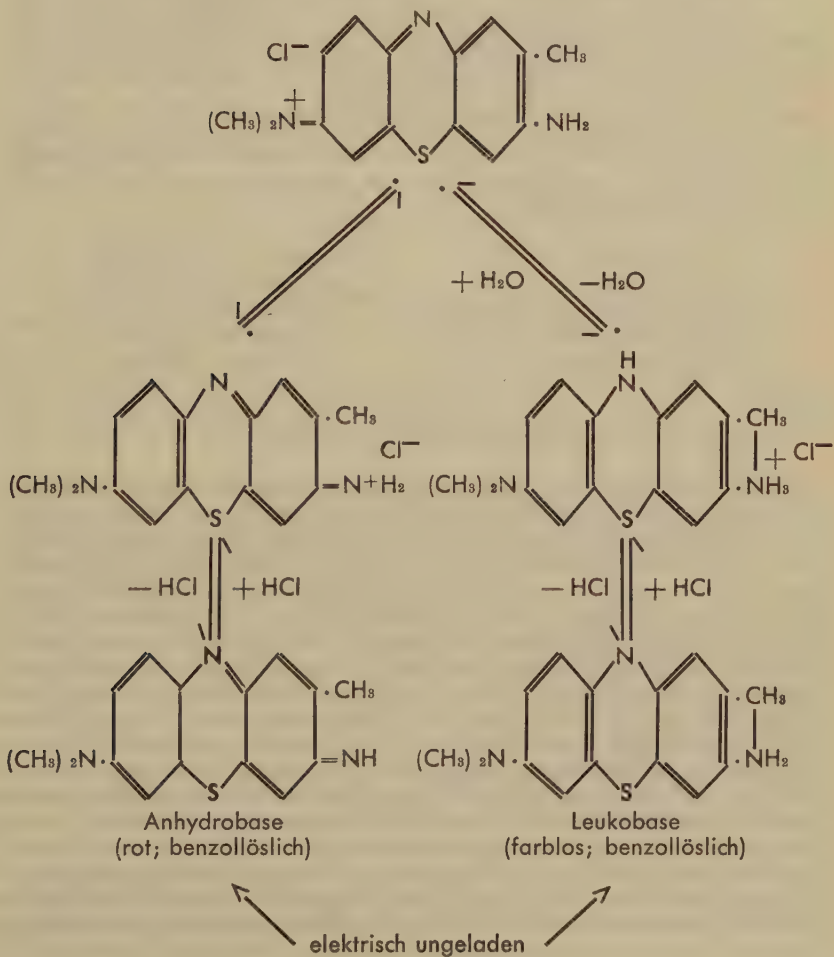
Das postmortale Übertreten von nicht schrankenfähigen Substanzen in das ZNS führen Becker und Quadbeck auf eine zunehmende Säuerung auf der Gehirnseite zurück, da postmortal der Milchsäuregehalt im Gehirn ansteigt. Dies läßt sich durch subdurale Milchsäureinjektionen sowie durch zisternale Gaben von NaHCO_3 oder Natriumacetat bestätigen, durch die man auch eine Anfröhung des ZNS durch nicht schrankenfähige Farbstoffe erreichen kann.

Die schnelle postmortale Anfärbung des ZNS mit Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC), im Vergleich zu anderen Farbstoffen, sei auf die bei der Reduktion von TTC frei werdende Salzsäure zurückzuführen, die ihrerseits die Permeabilität im ZNS steigere. Bei der Reduktion würde je Mol Formazan 1 Mol HCl in Freiheit gesetzt.





Toluidinblau
(nicht benzollösliches Farbsalz)



Diese Versuche legten die Vermutung nahe, daß die Funktion der BHS in erster Linie auf die Wirkung einer elektrischen Ladung an der Endothelmembran der Kapillaren zurückzuführen sei, da die Funktion der BHS schon durch geringe pH-Änderungen gestört werde.

Ausschüttelungsversuche von Farblösungen mit Benzol zeigten, daß alle Farbstoffe, die in bicarbonatalkalischem Benzol löslich waren, die BHS durchdringen konnten. Ebenso gelangten Farbstoffe, die sich mit Natriumhydrosulfit in benzollösliche Farben überführen ließen in das ZNS. Das heißt, daß die Benzollöslichkeit von Substanzen einen Indikator für ihre Lipoidlöslichkeit und damit für ihr Vermögen in das ZNS einzudringen darstellt.

Farben, die keine Anhydrobasen bilden, könnten nur in der Leukoform die BHS überschreiten.

Der Zusammenhang zwischen BHS-Permeabilität und Lipoidlöslichkeit lege die Vermutung nahe, daß am Aufbau der BHS, ähnlich wie bei anderen Zellmembranen, Lipide wesentlich beteiligt seien, wobei die Lipoidmoleküle, welche Dipolcharakter besäßen, durch die pH-Unterschiede zwischen Blut und Gehirn ausgerichtet würden. Durch pH-Änderungen könne die Ordnung der Dipole geändert werden, sodaß es zu einer Porenbildung in der BHS kommen könne.

Quadbeck und Randerath 110) untersuchten quantitativ den Übertritt von Methyleneblau in das ZNS, wobei Gaben von Rutin und eine Säuerung des Blutes den Übertritt verringerten. Gaben von Leukomethyleneblau erhöhten die übertretende Farbstoffmenge.

Methyleneblau	17 Gamma/1 gr Gehirn
Methyleneblau und Rutin	12 Gamma/1 gr Gehirn
Methyleneblau und Essigsäure	11 Gamma/1 gr Gehirn
Leukomethyleneblau	34 Gamma/1 gr Gehirn
Leukomethyleneblau und Rutin	25 Gamma/1 gr Gehirn

Tabelle 3
(nach Quadbeck und Randerath 110))

Quadbeck und Helmchen 25) geben in ihrer Arbeit, neben eigenen Versuchen, einen Überblick über die wesentlichen Ergebnisse auf dem Gebiet der Blut-Hirnschrankenforschung. Über die Morphologie der BHS ist bereits schon berichtet worden. An dieser Stelle soll noch einmal kurz darauf eingegangen werden. Quadbeck und Helmchen zeigen, unter Berücksichtigung der Forschungsergebnisse verschiedener Autoren, daß an der BHS das Gefäßendothel mit Basalmembran, Grundsubstanz und Astroglia beteiligt sind. Für eine Beteiligung des Gefäßendothels sprächen die Versuche von Spatz H. 21). Behnson 29) fand eine zunehmende Abdichtung der BHS mit zunehmendem Alter. Dafür spricht auch der Kernikterus der nur bei Säuglingen auftritt. Hess 116) habe aufgezeigt, daß sich nach ausgebildeter Schrankenfunktion durch PAS-Färbung (Perjodsäure, Schiff-Reagenz) eine Substanz an den Kapillaren nachweisen lasse, die dem embryonalen Gehirn fehle. Sie wird als Grundsubstanz angesprochen und ihrem histochemischen Verhalten nach vermutet man, daß sie aus Mucoproteiden oder Mucopolysacchariden bestehe. Es wird ihr eine Beteiligung an der Funktion der BHS zugesprochen. Kelentei 85) sei es gelungen, mit Hyaluronidase Penicillin in das ZNS zu bringen. Es ist vorstellbar, daß dies durch Auflösung der Grundsubstanz durch Hyaluronidase bewirkt worden ist. Ähnliche Vorgänge spielen sich nämlich bei der Bildung der Kittsubstanz 117)

des Mesenteriums ab. In wieweit jedoch diese Grundsubstanz der Kittsubstanz des Mesenteriums und der Bindegewebskapillaren homolog ist, kann hier nicht gesagt werden, doch kann die Durchlässigkeit der Kittsubstanz durch Verminderung des Calciumgehaltes im Blut erhöht werden. Für die Festigkeit des Kittes sei weiterhin von Bedeutung die Anwesenheit von Vitamin C, P und Hyaluronidase.

Clemente und Holst 118) haben an Affen gezeigt, daß nach Röntgenbestrahlung die BHS überall dort permeabel wird, wo es, infolge der Bestrahlung, zu einer Astrozytendegeneration gekommen ist, sodaß man auch eine Mitwirkung der Astrozyten an der BHS berücksichtigen muß.

Quadbeck und Helmchen fanden eine unterschiedliche Permeabilität in den einzelnen Hirngebieten. Phosphat trete schneller in die Hirnrinde als in den Thalamus, Bromid dagegen schneller in den Thalamus. Ebenso verliefen Permeabilitätsstörungen nicht für alle Stoffe gleichsinnig.

So steigere eine CO-Vergiftung die Schrankendurchlässigkeit für Astraviolett und Sulfanilsäure, vermindere jedoch den Übertritt von Sulfanilamid 108) 119).

Vor allem aber sei die intakte BHS undurchlässig für Ionen wie Na, K, Ca, Mg, Cl, HPO_4 4 Sie könnten nur sehr langsam durch die BHS durchtreten 120), 121), 122).

Auch für organische Substanzen wie Essigsäure, Asparaginsäure 123), Milchsäure, Bernsteinsäure und Glutaminsäure 124), bestehe eine Schranke.

Mit CO_2 , O_2 , NH_3 Gasen finde zwischen Blut und Gehirn ein freier Austausch statt.

Weder Saccharose noch Fruktose könnten in nennenswerten Mengen die BHS permeieren und dürften darum zur Behandlung des Hirnödems geeigneter sein als Glukose.

Dadurch, daß die BHS auch für H^+ und OH^- Ionen impermeabel sei, könne der für die Funktion der Schranke wesentliche pH-Unterschied von ungefähr 0,2 zwischen Blut und interstitieller Flüssigkeit des ZNS aufrechterhalten werden.

Ionen, die doch in das ZNS gelangten, seien vielleicht durch spezifische „Carrier-Substanzen“ in das ZNS übertragen worden, wie Na durch Phosphatidyl-Serin, K durch Cerebrosidoschwefelsäureester, Mg und Ca durch Diphosphoinosit 125). Quadbeck und Helmchen gelang es Br^- in das ZNS zu bringen, nachdem es in ein Hydantoin eingebaut war.

Für Trypanblau, das häufig als Schranken-Indikator verwandt wurde, fanden sie eine schrankenabdichtende Wirkung, da nach Gaben von Trypanblau die Substanzen wie Methylenblau und Phosphat vermindert im Gehirn nachweisbar waren, d. h. daß Trypanblau sich selbst den Weg in das ZNS verlegt.

Die Vielzahl und Vielgestaltigkeit der hier aufgeführten Arbeiten zeigen, welch großes Interesse man seit Beginn des 20. Jahrhunderts dem Blut-Hirn-Schrankengeschehen entgegenbrachte und auch heute noch entgegen bringt. Dieser Eindruck verstärkt sich, wenn man bedenkt, daß nur ein Teil der Arbeiten über die Blut-Hirn-Schranke, und diese nur in kurzer Zusammenfassung, berücksichtigt worden sind.

Die folgende Zusammenstellung der einzelnen Versuche und Versuchsanordnungen soll der Erweiterung der bereits angeführten Arbeiten dienen. Aber auch sie kann wegen der großen Materialfülle keinen Anspruch auf Vollständigkeit erheben.

Autor	Versuchstier	Indikator	Dosis	Applikation	Krämpfe
Ehrlich P. 2)	Kaninchen	a. Farbbasen Fuchsin Malachitgrün Methylgrün Pentamethylrosanilin Hexamethylrosanilin Hexaaethylrosanilin Viktoriablau Nachtblau Thiodiphenylaminblau Auramin Chrysoidin Bismarckbraun Phenosaffranin Tetramethylphenosaffranin Saffranin Toluylenblau Neutralrot (Toluylenrot) Phosphin Flavanilin Chinolinroth Methylenblau Aethylenblau u. a. Thioninderivate	?	s. c.	?
		b. Primäre Farbsäuren und Nitrokörper Fluorescein Eosin Methyleosin Thional Gallein Gallocyanin Bromnitrosalicylsäure Mariusgelb Aurantia Alizarin Nitroalizarin Purpurin Galloflavin Rufigallussäure Hämatoxylin Hämatein Aloepurpur Azolithmin Aescarin und andere	?	s. c.	?
		c. Sulfosäuren Säurefuchsin Säureviolett Säuregrün Alkaliblau Wasserblau Dinitronaphtholsulfosäure Flavanilinsäure Alizarinblausulfosäure Alizarinsulfosäure Naphtholgrün Induline (wasserlöslich)	?	s. c.	?

[illegible]

Autor	Versuchstier	Indikator	Dosis	Applikation	Krämpfe
		Nigrosine (wasserlöslich) Alizarin S Azoverbindungen sulfonierte: Orange Tropaeoline Scharlachrot Bordeaux Congo usw.			
Lewandowsky 3)	Kaninchen	Na 4 Fe Cy 6 5 %	30 ccm	i. v.	—
Curdy G. T. M. Evans H. M. 4)		Trypanblau	—	i. v.	—
Goldmann E. 5)	Frosch Maus Ratte Meerschweinchen Kaninchen Hund Affe	Trypanblau 1 % Isaminblau	30–50 ccm —	i. v. —	
Ahrens 6)	Hund	Kongorot 5 %	5 ccm	A. car.	
Rachmanow A. 7)		Trypanblau Isaminblau	—	—	
Woolsey W. C. 8)	Katze Hund Kaninchen	Trypanblau 2 % in Salzlösung Trypanblau 2 % in Salzlösung	10–20 ccm 3–5 ccm	i. v. i. a. s. c.	
Weichbroth R. 89)	Maus Mensch	Salvarsan Trypanblau	— 20–100 ccm	— i. v.	
Macklin C. C. Macklin M. T. 90)		Trypanblau			
Gennerich W. 91)	Leichen	Ferrozyankali 1–3 %		e. l.	
Siengalewicz S. Clark A. J. 92)	Hund	Trypanblau	0,04 gr/kg	i. v.	

Wirkstoff	Dosis	Applikation	BHS-Durchbruch	Bemerkungen
			- - - - -	
			-	Indikator für das Übertreten in das ZNS, ist das Auftreten von Krämpfen. Er glaubte, das ZNS werde über den Liquor ernährt.
Impfen von Viren in das ZNS			-	An den lädierten Stellen des ZNS Anfärbung mit Trypanblau
			- -	In Zwischenräumen von 24-48 St. 2 Farbinjektionen. In Narkose Formolinjektion 10 ccm 10 % vom schlagenden Herzen aus. Tötung des Tieres 4-6 Tage nach der 1. Farbinjektion. Bei i. v. Gaben kein Farbübertritt in den Liquor.
			-	Nebenbefund bei der Arbeit über die Liquorströmung im ZNS. (Weder Gehirn noch Liquor färbten sich mit Kongorot).
			- -	ZNS ungefärbt; Plexus chor. u. Hypophyse gefärbt.
			- -	Subcutane Gaben wurden wiederholt; i. a. und i. v. erfolgte nur eine einmalige Injektion. Die Tiere wurden nach 8 Stunden ohne Narkose getötet.
			- -	Die Trypanblauinjektionen dienten zur Therapie der Metastases.
... in dem ZNS mit glühender Nadel			+	Anfärbung des ZNS im Bereich der Läsionen.
... ... Vesiclen			- +	Schnitte in 1 % CuSO ₄ eingelegt - Farbniederschläge nur beim Luiker im Bereich paralytischer Rindenprozesse. Normal ZNS ungefärbt.
... ... h-Schock (Armour Peptone Nr. 2) 10 % Lösung			- +	Tiere durch Ausbluten getötet und Gehirn in Formalin fixiert. Liquor weder bei Normal = noch bei Schocktieren angefärbt.

Autor	Versuchstier	Indikator	Dosis	Applikation	Krämpfe
Siengalewicz S. Clark A. H. 92) u. 93)	Kaninchen	Trypanblau 1 % wässr. Lösung (4-5 mal alle 24 Stunden)	5-10 ccm	i. v.	
	Hund	Kongorot	0,03 gr/kg	i. v.	
Fröhlich A. Zak E. 31-38)	Frosch	Säurefuchsin 5 %	0,4 u. 0,3 mg/gr	i. L.	- K
	Maus Meerschweinchen	Na 4 Fe Cy 6	5 mg/gr		- K
	Frosch	Phenolsulfophtalein 5 % Tropäolin 0,2 % Naphtholgelb Säuregrün Alle aufgeführten Substanzen	2 mg/gr 0,5 mg/gr 0,8 mg/gr 1,5 mg/gr s. D.	i. L. i. p. i. p. i. p.	K K K K -
Abel 94)	Frosch	Säurefuchsin Penolsulfophtalein Naphtholgelb Tropäolin 00 Alle aufgeführten Substanzen			K K K K -
Behnen G. 29)	Maus	Trypanblau 1 % (Injektionen mit 1 Tag Zwischenraum)		s. c.	
Morgenstern Birjukoff 26 u. 95)	Kaninchen	Trypanblau 2 %	32 ccm	i. v.	
		Trypanblau Trypanblau Trypanblau	0,25 mg/kg 0,4 mg/kg 0,25 mg/kg		
Gärtner W. 13)	Kaninchen	Trypanblau (chronische Gaben)			
Mandelstamm Krylow 96) u. 97)		Trypanblau		i. v.	

Wirkstoff	Dosis	Applikation	BHS-Durchbruch	Bemerkungen
maltier Vergiftung -Salvarsan	— 0,1–0,2 gr/kg	— i. v.	— + (+)	Die Tiere wurden in Glaskästen mit CO-vergifteter Luft gesetzt. (Liquor der CO-vergifteten Tiere ungefärbt).
maltier ick (10% Armour Peptone Nr. 2)	0,25 gr/kg	i. v.	— —	Liquor bei den Versuchstieren nicht angefärbt.
maltier ph. natr. acet. an 3 Tagen	— 0,12 mg/gr	— i. L.	— +	Säurefuchsin wurde 50 Minuten nach der letzten Theophyllin- gabe injiziert. Gehirne nicht gespült, sondern das zerriebene Gehirn betrachtet.
maltier ph. natr. acet. 3 % o. 1 %	— 0,12 mg/gr	— s. c.	— +	Einlegen des Gehirns in Eisenchlorid; Berliner-Blaureaktion nur bei den Theophyllin-Tieren positiv; Tiere, die nur Theo- phyllin erhalten haben, bekamen keine Krämpfe.
ph. natr. acet. 3 % o. 1 % ph. natr. acet. 3 % o. 1 % ph. natr. acet. 3 % o. 1 % ph. natr. acet. 3 % o. 1 %	0,12 mg/gr 0,12 mg/gr 0,12 mg/gr 0,12 mg/gr	i. L. i. L. i. L. i. L.	+ + + +	
maltier	—	—	—	
Abtragung des vorderen Drittels der Großhirnhemi- re " "			+ + + +	Fröhlich und Zak bemerken hierzu: „Es muß also eine Schutzvorrichtung durchbrochen worden sein“.
maltier			—	
e Mäuse Mäuse			+ —	Je älter die Tiere waren, umso geringer war die Anfärbung des ZNS.
			—	Nach einbringen von Celloidenstückchen in Liquor, färbt sich ZNS; an den Berührungsstellen entstand eine Entzündung (Zum 1. Male Kapillaren als Sitz der BHS erwähnt).
er/ Vergiftung e Enteritis			— + + +	Es wurde angenommen, daß die Konzentration des Farbstoffes maßgeblich am Übertritt in das ZNS beteiligt ist. Anfärbung nur dort, wo mikroskopisch Kapillarblutungen nachweisbar. Bei akuter Enteritis, hämorrhagische Encephalitis nachweisbar.
maltier n der Membrana gliae			— +	
			—	Es färbten sich nur Hypophyse, Epiphyse, Infundibulum, Re- cessus opticus und Area postrema. (Bei Injektionen in den Liquor, sind diese Stellen nicht angefärbt).

Autor	Versuchstier	Indikator	Dosis	Applikation	Krämpfe
Hoff H. Silberstern F. 42)	Kaninchen	Tetanustoxin D. L. Tetanustoxin D. L.		s. c. s. c.	
Stern L. Lokshina E. 47)	Katze Kaninchen	Trypanblau Kongorot Jodnatrium Na 4 FeCy 6 Trypanblau Kongorot Jodnatrium Na 4 FeCy 6 Trypanblau Kongorot Jodnatrium Na 4 FeCy 6 Trypanblau Kongorot Jodnatrium Na 4 FeCy 6	0,1 gr/kg 0,15 gr/kg 0,3 gr/kg 0,5 gr/kg 0,1 gr/kg 0,15 gr/kg 0,3 gr/kg 0,5 gr/kg 0,1 gr/kg 0,15 gr/kg 0,3 gr/kg 0,5 gr/kg 0,1 gr/kg 0,15 gr/kg 0,3 gr/kg 0,5 gr/kg		
Stern L. Rapoport Kremlew L. 98)	Katze Kaninchen gravide Kaninchen Kaninchen Maus	Trypanblau Jodnatrium Na 4 FeCy 6 Trypanblau Jodnatrium Na 4 FeCy 6 Kongorot } 1 Tag nach Geburt Jodnatrium } den Jungtieren Kongorot 3‰ Trypanblau 2‰ Jodnatrium Na 4 FeCy 6	0,1 – 0,15 gr/kg – 0,1 – 0,15 gr/kg – – – 5 ccm/kg 5 ccm/kg – –	i. v. i. v. – – s. c. s. c. i. v. i. v. – –	
Stern L. Kassil N. G. Lokshina E. 50)		Trypanblau Kongorot Jodnatrium Na 4 FeCy 6			

Wirkstoff	Dosis	Applikation	BHS-Durchbruch	Bemerkungen
Antitoxin Antitoxin und 2 klin. Einh. Insulin Antitoxin und Euphyllin 3 Mal Antitoxin 3 Mal			+ (+) ((+)) +	Tiere, die Insulin bekamen, lebten länger, einige blieben am Leben. (Versuche aufgegeben, da Ergebnisse nicht eindeutig) Mit Euphyllin Wirkung des Antitoxins verstärkt.
Trypanblau (einige Minuten vor Injektion der Testsubstanzen)	0,25 gr/kg 0,25 gr/kg 0,25 gr/kg 0,25 gr/kg	i. v. i. v. i. v. i. v.	+ - - -	10-15 Minuten nach der Farbinjektion Tötung der Tiere durch Verbluten. Die Gehirngefäße wurden mit 0,9 % NaCl durchgespült. Auch im Liquor war nur Trypanblau nachweisbar.
Wangenschmuck			-	
"			-	
"			-	
Vergiftung			+	
"			+	
"			-	
Alkoholvergiftung			+	
"			+	
"			-	
Kolloidektomie (15-30 Tage vorher)			+	Gleiches Verhalten des Liquors und des ZNS
"			-	
Permeabilität (15 Tage - 6 Wochen vorher)			+	Auch hier ist die Permeabilität für Kolloide erhöht und für Kristalloide verringert.
"			-	
Alkohol in Ringerlösung den Muttertieren vor der Geburt		p. o. i. v.	+	
"			-	
SH 2 - u. HCN-Vergiftung			+	Kolloide (Kongorot; Trypanblau)
SH 2 - u. HCN-Vergiftung			+	
SH 2 - u. HCN-Vergiftung			-	Kristalloide (Jodnatrium; Na 4 FeCy 6)
SH 2 - u. HCN-Vergiftung			-	
Code des R. E. S. mit Chinesischer Tusche 2 % (akut und chronisch)	20-40 ccm	i. p. o. i. v.	- - - -	

Autor	Versuchstier	Indikator	Dosis	Applikation	Krämpfe	
Stern L. Zeitlin S. Gazmann R. 52)		Kongorot Trypanblau Jodnatrium Na 4 FeCy 6 Hämoly sine				H g B
Mendel Walter F. K. 40)	Maus Kaninchen	Trypanblau 0,5 % (1 St. - 8 Tg. vor Eingriff) Trypanblau 2 % (1 St. - 8 Tg. vor Eingriff)	2 ccm 10 ccm	i. p. i. v.		L V
Hoff H. 44)	Ratte	Hg-, As-Salze Hg-, As-Salze		i. v. i. m. Inh.		
Pentschew A. 99)	3 Affen	Trypanblau				V
Grinsteyn A. Popova 100)	Hund	Trypanblau	48-96 mg/kg	i. v.		C
Tschetschujewa T. 101)	Kaninchen	Trypanblau 1 % jeden 2. Tag bis zur Gesamtmenge von 12 - 126 ccm	0,5 - 10 ccm 100 gr	i. v.		
Walter F. K. 18)	Kaninchen	Trypanblau 1 % täglich 5 - 10 ccm	5-10 ccm	i. v.		D
Schmid H. 56)		Trypanblau Prune pure 2 %		i. v. i. v.	K	D
Hauptmann A. Gärtner W. 14)	Kaninchen	Alizarinblau S 5 % in wässr. Lösung	15 ccm	i. v.	K	N
Spatz H. 21)	Kaninchen	Trypanblau 1 % 9 Mal in 25 Tagen Trypanblau gesättigte Lösung 6 St. vor dem Tod. Trypanblau Trypanblau	10 ccm 20 ccm ?	i. v. i. v. i. v. ?	 ?	 it L
Schuster J. 102)		Methylenblau (in großen Mengen)		i. v.		

Wirkstoff	Dosis	Applikation	BHS-Durchbruch	Bemerkungen
to- und hypotonische Ringer- und Glucoselösung (= Steigtog und Verminderung des osmotischen Druckes des to- to		i. v.	+ + + +	Die negativen Ergebnisse früherer Autoren seien auf nicht genügende Änderungen des osmotischen Druckes zurückzuführen.
rat des ZNS mit einer Platinnadel horfung eines Teiles der Hirnrinde)			+ +	Anfärbung des ZNS nur im Bereich der Verletzungen. Eingriff unter Narkose. Mäusen: Novokainanästhesie, Kaninchen: Urethan 10 % 7 ccm/kg rektal.
va e e Vd			- +	Vermehrtes Auftreten der Metallsalze im NZS nach Inhalation da dieselben nach i. v. und i. m. Gaben von der Leber abgefangen würden.
ftung mit Secale cornutum			+	Pentschew macht die Ergotaminwirkung des Secale cornutum für den Übertritt der Farbe in das ZNS verantwortlich.
ergiftung 1-10 Mal 0,25 %			-	
a			-	Die spinalen Ganglien sind im Gegensatz zum ZNS verfärbt.
trennung des Nervus ischiadicus			-	Auch die nach Ischiadicusdurchtrennung degenerierten Zellen des ZNS nehmen keinen Farbstoff auf.
ermie c t			+ +	Im bestrahlten Bereich des ZNS Nekrosen, Diapedesisblutungen und Anfärbung. Der in den Geweben reduzierte Farbstoff Prune pure färbt sich an der Luft wieder blau. Die Tiere starben während der Injektion an Krämpfen.
15 Minuten an heftigen Krämpfen gestorben			+	Diffuse Blaufärbung des ZNS
erleichen nen im ZNS			- + +	Anfärbung nur im Bereich der Läsionen.
			+	Anfärbung durch Zusatz von Formalinessigsäure verstärkt.

[illegible]

Wirkstoff	Dosis	Applikation	BHS-Durchbruch	Bemerkungen
ad- un tcg ur tc tc			+	Liquor farblos
rd de horf			- - - - - - + + +	Tötung der Tiere 5 Tage nach der letzten Farbinjektion. Die Tiere erhielten innerhalb von 75 Tagen zus. 94 ccm Farbe i. v. 176 ccm Farbe s. c.
turmaltier nobromkampfer alkoholisch (8 Krämpfe) amin			- + +	Tiere nach der letzten Krampfattacke getötet. Diffuse Färbung des ZNS; bei starker Vergrößerung nur Kappillaren blau verfärbt erkennbar.
erg			+ + - + + - + +	Nach Suboccipitalpunktion Tiere getötet; ZNS und Liquor untersucht. (Gekreuzte Durchströmung d. Tiere). Alizarinblau auch nach s. c. Gaben im ZNS nachweisbar. Alizarinblau s. c. im ZNS blau Alizarinblau i. v. im ZNS dunkelviolett Alizarinblau i. wässr. Lösung braunrot Alizarinblau im Plasma blau
utrenalin lophysin			+ - + +	
ermaltier maltier maltier			- - -	
enalin enalin enalin			- - -	
1:			+ + + + + + + -	Mit Ausnahme von Safranin färbten alle basische Farben in Gaben von 1-7 mgm das ZNS. Mit Ausnahme von Aurantia färbten alle saure Farben in Gaben von 20-80 mgm das ZNS. Gehirne der Versuchstiere nicht gespült! M. St. D. = Minimal Staining Dosis

Autor	Versuchstier	Indikator	Dosis	Applikation	Krämpfe	
		Saure Farbstoffe Aurantia Indigodisulfat Indigotetrasulfat Trypanblau Kongorot Wasserblau Alizarinblau Säurefuchsin Orange Bordeaux Eosin Uranin	M. St. D. 2,5 mgm 20 mgm 40 mgm 40 mgm 40-80 mgm 80 mgm 80 mgm 40 mgm 40 mgm 40 mgm 40 mgm 80 mgm	i. v. i. v. i. v. i. v. i. v. i. v. i. v. i. v. i. v. i. v. i. v.		
Goldhammer H. Marburg O. 74)	Kaninchen	Argotropin Argotropin	5 ccm 5 ccm			-- Os 11
		Dextrinsilber 4 Tage (kolloidal) Dextrinsilber 3 Mal Argentum lyzalbiniicum 9 Mal 1 % Argentum lyzalbiniicum 9 Mal 1 %	3 ccm 3 ccm 5 ccm 5 ccm			-- Os -- Os
		Trypanblau 0,75 % chronisch Trypanblau 3 - 5 % chronisch bis † Trypanblau 0,75 % Trypanblau 0,75 % Trypanblau 0,75 %	5 ccm 5 ccm 5 ccm 5 ccm 5 ccm			-- -- Vo Pit Eup
		Trypanblau 14 Tage Trypanblau 14 Tage Trypanblau 14 Tage Trypanblau 0,75 % 10 Tage lang	-- -- -- 5 ccm		-- K K	Mo Ca No Os
		Kongorot Nachtblau (positiv geladen) Kongoblau (negativ geladen) 11 Mal	5 ccm 10 ccm 10 ccm	i. v.		Os Os Os
Campailla G. 72)		Trypanblau		i. v. und i. m.		Ca Ins
Broman T. 63) u. 66)		Bromphenolblau 4 % in 0,9 % NaCl) Trypanblau 1 % in 0,9 % NaCl)		i. v. s. c. i. p.		1. 2. 3. 4. 5.
	Meerschweinchen Katzen Kaninchen je 2 Tiere Meerschweinchen 560 gr	Trypanblau 1 % in Tyrode-Lösung Trypanblau Trypanblau in Gummityrode Eosin 1 %	35-100 ccm/kg 25 ccm	i. v.		-- 15- --

Wirkstoff	Dosis	Applikation	BHS-Durchbruch	Bemerkungen
			+ + + + + + - - -	M. St. D. = Minimal Staining Dosis
in (40 % hypert. Zuckerlös.) ge - 3 Wochen Vorbehandlung			- +	Gehirn bräunl. verfärbt; Liquor farblos
in 3 Mal			- + - +	Feigl'sche Reaktion positiv
handlung mit Natriumphosphat in lin (7 Tage lang)			- + + -	(Schock mit nachfolgender Gefäßparese) (Es fehlen Angaben über die Zahl der Versuche)
promkämpfer (14 Tage lang) azol 10 % ain 5 % (7 Tage je 1 Krampf) n (10 Tage lang)			+ - + +	
n u. 4 Mal Dextrin (Schuttkolloid) (11 Mal)	10 ccm	i. v.	- - -	(Tiere die kein Dextrin erhielten, starben sofort nach der Injektion)
azol (5-7 Anfälle) (mehrere Schocks)			+ +	In beiden Versuchen zeigten die Gehirne eine diffuse Anfärbung.
mann-Serum offel- und Reisstärke schaum (in Gummytyrode 5 %) le emulsion (Olivenöl in Gummytyrode 5 %)		in re. A. car. com.	+ + + +	
Minuten postmortal (Spülung)			- - - +	Versuchstiere 15-16 Minuten nach Injektion getötet. Spülung mit Tyrode erfolgte mit einem Druck, der dem Blutdruck der Tiere entsprach. Inj. in 15 Minuten in Urethhannarkose; Spülung mit Tyrodelösung.

Autor	Versuchstier	Indikator	Dosis	Applikation	Krämpfe
Felici M. 105)	Kaninchen	Trypanblau		i. v.	
Leonhardt H. 76)	Meerschweinchen	Trypanblau 2 % (2 Tage lang)	1 ccm	s. c.	
Bauer K. F. Leonhardt H. 75)	Kaninchen Kaninchen Kaninchen Kaninchen Kaninchen Kaninchen	Trypanblau Farbstoffe Trypanblau Geigyblau 1 % in 0,9 % NaCl Geigyblau 1 % in 0,9 % NaCl Geigyblau Geigyblau Trypanblau 1 % in 0,9 % NaCl	15 ccm 25 ccm 15 ccm	s. c. i. p. i. v. i. v. i. v. i. v. i. v.	K K K
Bauer K. F. Haase S. Leonhardt H. 77)	Kaninchen Kaninchen Kaninchen Kaninchen Kaninchen Kaninchen	Geigyblau 1 % wässr. Lösung Geigyblau 1 % wässr. Lösung Geigyblau 1 % wässr. Lösung Geigyblau 1 % wässr. Lösung Geigyblau 1 % wässr. Lösung Geigyblau 1 % wässr. Lösung	100 mg/kg 10 ccm 100 mg/kg 100 mg/kg 100 mg/kg	i. v. i. v. i. v. i. v. i. v. i. v.	
Leonhardt H. 78)	Kaninchen	Geigyblau 1 % wässr. Lösung	100 mg/kg	i. v.	
Eich J. Wiemers K. 81)	Ratte Katze Hund 6,5 kg Katze 3,5 kg Hund 12 kg Katze 2,5 kg	Trypanblau 1-2 % Trypanblau " Trypanblau " Trypanblau 2 % Trypanblau " Trypanblau 1 % Trypanblau 1 %	20 ccm 120 ccm 35 ccm	i. a. i. v. i. v. i. v.	
Wiemers K. Maurer W.	Ratte Katze	Thoriumnitrat in 1 ccm 0,9 NaCl radioaktiv (das sind 2 mg Thoriumelement mit UX 1 (Th ²³⁴) Halbwertszeit 24,3 Tg.	4 mg	i. v.	02 N

Wirkstoff	Dosis	Applikation	BHS-Durchbruch	Bemerkungen
hock			-	
aschall 2,4 Watt 5 Minuten Stunden nach Farbinjektion)			+	Farbinj. u. Beschallung 8 Tage jeden 2. Tg. Tötung d. T. in Chloroformnarkose. Im Bereich der Beschallung im ZNS scharf begrenzter blau verfärbter Herd.
-			+	Manche Stellen des ZNS leicht angefärbt.
h Tötung der Tiere Durchspül. m. d. Farben			+	Einige Stellen des ZNS angefärbt.
-			+	Tiere nach einigen Stunden getötet u. das Gehirn durchspült
Cardiazol 10% (5 Tiere)	1 ccm	i. v.	-	Nach 2 Stunden Durchspülung der Gehirne mit 0,9 % NaCl
Cardiazol 10% (4 Tiere)	1 ccm	i. v.	+	
Cardiazol (15 Min. vor Farbinjektion)	1 ccm	i. v.	+	
Cardiazol (1 und 14 Stunden v. Farbinjektion)	1 ccm	i. v.	-	
Cardiazolschock (1 St. nach Farbinjektion)	1 ccm	i. v.	-	
3				
Cardiazol 10% (20 Min. nach Farbinjektion)	20 mg/kg	i. v.	+	25 Min. nach der letzten Injektion Durchspülung des ZNS von d. Aorta aus in Äthernarkose mit 140 ccm 0,9 % NaCl; Fixierung der Gehirne mit 40 ccm Carnoy-Lösung. Bei Gaben von weniger als 17 mg/kg Cardiazol keine Anfärbung des ZNS. Mit steigender Cardiazol nimmt die Intensität der Anfärbung des ZNS zu. Nach Gaben von Ascorbinsäure verringert sich die Intensität der Anfärbung.
Cardiazol 10% (20 Min. nach Farbinjektion)	40 mg/kg	i. v.	+ +	
ion 50 mg/kg 20 Min. nach Farbinj.)	20 mg/kg	i. v.	(+)	
Cardiazol 25 Min. nach Farbinjektion)	40 mg/kg	i. v.	-	
octon 40 mg/kg; Cardiazol	40 mg/kg	i. v.	-	
ationierte Cardiazolgaben	40 mg/kg	i. v.	-	
5; 5; 5; - 40 mg/kg)	?	i. v.	-	
in phere Entzündung; Cardiazol				
or				
Cardiazol 2 mal i. Abstand von 10 Min.	10 mg/kg	i. v.	+	
Cardiazol 8 mal i. Abstand von 10 Min.	5 mg/kg	i. v.	-	
(1) apphen; Cardiazol	-	-	-	
u. Mangel bis 4 St. (Höhe v. 11 km)			-	Versuchstiere in einem Excikator auf gewünschte Höhe gebracht. Spülung der Gehirne erfolgte von den Carotiden aus mit 1-3 Liter 0,9% NaCl bei einem Druck von 200-250 mm Hg. Anschließend Fixierung der Gehirne in 5% Formalin. Vor Spülungsbeginn Herz herausgeschnitten.
mal tier			-	
Vergiftung			-	
amin	1 mg	i. a.	-	
olamin	2 mg	i. a.	-	
m				
) Milchsäure (4 Min. nach Farbinj.)	20 ccm	i. a.	-	
phol 70% (5 Min. nach Farbinjektion)	2 ccm	i. a.	-	
fe				
na				
u				
Mangel (- 9 St. in einer Höhe v. 10-11 km)			-	Tötung d. T. 1-2 St. nach der Injektion in Äthernarkose. Spülung wie in 81). Bestimmung der Radioaktivität des ZNS mit Geiger-Müller Zählrohr. Die Gehirne beider Versuchsgruppen enthielten gleiche Mengen von Thorium.
mal tier			-	

Autor	Versuchstier	Indikator	Dosis	Applikation	Krämpfe	
Greig E. Mayberry C. 106)	Maus	Barbiturat in H ₂ O Glucochloralose in H ₂ O } 0,015 ccm/gr	0,234 mgm/gr 0,082 mgm/gr	i. v. i. v.		N PH N
Stern W. Marshall C. 83)	Katze	Radioaktiver Phosphor ³² P Radioaktiver Phosphor ³² P Radioaktiver Phosphor ³² P Radioaktiver Phosphor ³² P	9-39 uC/kg	i. v.		N ge ge
Aird R. B. Strait L. S. Zea Lear D. Hrenoff M. 107)	Katze	Cocain Cocain				N kö
Koch Bohn Heiß Schneider 84)		Penicillin Penicillin	< 80 000 E/kg > 80 000 E/kg	i. m. i. m.		
Kelentei B. 85)	Meerschweinchen	Antibiotica (Penicillin, Chloromycin) Antibiotica (Penicillin, Chloromycin) Antibiotica (Penicillin, Chloromycin) Antibiotica (Penicillin, Chloromycin) Antibiotica (Penicillin, Chloromycin) Antibiotica (Penicillin, Chloromycin)				Vo Vo Vo Vo ce N
Eichhorn O. 88)	Meerschweinchen	Radiophosphor ³² P Radiophosphor ³² P Radiophosphor ³² P Radiophosphor ³² P Radiophosphor ³² P	150 uC	s. c.		N Ru (3) Co N E-
Becker A. Quadbeck G. 23), 108)		TTC 5% in Phosphat-Puffer pH 7,4 Trypanblau Astraviolett FF 2% i. Phosphat-Puffer pH 7,4 Astraviolett und TTC TTC Astraviolett Astraviolett u. TTC Trypanblau	1 ccm 5 ccm/kg	i. v. i. c. i. v. i. c.		0 3- 3- 3- Su Su Su Su

Wirkstoff	Dosis	Applikation	BHS-Durchbruch	Bemerkungen
Maltier Physostigmin 0,4 microgm in Physostigmin 0,4 microgm in Maltier	0,01 ccm 0,01 ccm	- i. p. i. p. -	- + + -	Nach Physostigmingaben wurde die Narkosewirkung um 50% verstärkt.
Maltier ztes Trauma zte eitrige Entzündung zte Ischämie	} am ZNS		+ + + +	
Maltier lich gesetzte Commotio cerebri			+ + +	Spektrochemischer Nachweis des Cocain in dem ZNS
			+ -	
Maltier eh. mit Hyaluronidase eh. mit Histamin eh. mit Adrenalin eh. mit Ergotamin kale Ganglienblockade Maltier			+ + + - + -	Ganglienblockade mit Procain-Alkoholinjektion
Maltier (1 ccm=15 mg Rutin, 50 mg Vitamin C, 3 mg Vitamin K) 9, 19, 22 St. nach der Injektion von P ³²)	3 ccm		+ -	24 Stunden nach der Injektion von P ³² Tötung der Tiere durch Verbluten
Maltier iazol ocain lock			+ + + + +	
Mangel (verschiedene Höhen) it. U-Druckkammer 11-12 km Höhe it. U-Druckkammer 11-12 km Höhe it. U-Druckkammer 11-12 km Höhe			+ ? - + + +	TTC = Triphenyltetrazoliumchlorid
Maltier kute CO-Vergiftung nach O ₂ - Mangel kute CO-Vergiftung nach O ₂ - Mangel kute CO-Vergiftung nach O ₂ - Mangel kute CO-Vergiftung nach O ₂ - Mangel			+ + + -	

Autor	Versuchstier	Indikator	Dosis	Applikation	Krämpfe
Becker A. Quadbeck G. 23) u. 108)	Kaninchen Meerschweinchen Kaninchen 3,6 kg	TTC 5% in Phosphatpuffer pH 7,4	1 ccm/kg	i. v. i. c.	N P
		Trypanblau Astraviolett FF 2% i. Phosphat-Puffer pH 7,4	— 5 ccm/kg	— i. v. i. c.	P N P
		TTC 5% i. Pufferlösung pH 7,4 Trypanblau gesätt. wässr. Lösung	1 ccm/kg 10 ccm/kg	i. v. i. v.	M M
		TTC 5% i. Pufferlösung pH 7,4 Trypanblau gesätt. wässr. Lösung	1 ccm/kg 10 ccm/kg	i. v. i. v.	N N
		Astraviolett FF 2% Puffer-Lös. pH 7,4 Astraviolett FF 2% Puffer-Lös. pH 7,4	5 ccm/kg 5 ccm/kg	i. v. i. v.	N
		Astraviolett FF Astraviolett FF	— —	p. m. p. m.	25 u. u.
		Trypanblau			
		Acridinorange —N (CH 3) 2			
		Nilblau Neutralrot —N (CH 3) 2 Toluidinblau			
		Methylenblau —N (CH 2) 2			
		Janusgrün —N (C 6 H 5)			
		Malachitgrün —N (CH 3) 2			
		Resazurin —O —			
		Fluorescein —COO —			
		Eosin bläulich —COO —			
		Methylorange —SO 3			
		Trypanblau 4-SO 3			
		Lactoflavin 4-OH			
		Astraviolett FF =N + (CH 2) —			
Quadbeck G. Randerath K. 110) u. 111)	Ratte 200–300 gr	Methylenblau 0,25% in Puffer-Lös. pH 7,4	16,7 mg/kg	i. v.	—
		Methylenblau 0,25%	16,7 mg/kg	i. v.	mi
		Methylenblau 0,25%	16,7 mg/kg	i. v.	mi
		Methylenblau			Vo
		Methylenblau			m/ Vo
		Methylenblau			Puf Vo
		Methylenblau			Lös
	Katze	Methylenblau 3% Methylenblau 3% Methylenblau 3% u. Ascorbinsäure (300 mg/ccm Methylenblau)	30 mg/kg 30 mg/kg 30 mg/kg	i. v. i. v. i. v.	No Kü Kü

Wirkstoff	Dosis	Applikation	BHS-Durchbruch	Bemerkungen
maltier naltimortal (nach 3 Min. Anfärbung)			- +	Spülung des ZNS durch das Herz. In allen Versuchen war die weiße Substanz stets ungefärbt.
ostimortal (nach 12 Stunden Anfärbung)			-	
ostimortal (nach 30 Min. Anfärbung)			- +	
nalt chsäure 16 %	1 ccm	s. O.	+	Anfärbung in der Umgebung der Milchsäureinjektion
chsäure 16 %	1 ccm	s. O.	+	
nalt triumacetat, NaHCO 3 oder E- und Insulinschock			-	
izte			-	
izte acetat 5 % (15 Min. vor Farbinjektion Na-OH2n			+	
			+	
Min. postmortal Anfärbung d. ZNS			+	
TC 6 Min. postmortal Anfärbung d. ZNS			+	
nalt TC 40 Min. postmortal Anfärbung d. ZNS			+	
			+	Alle lipoidlösliche Farben sind in das ZNS übergetreten.
			+	
			+	
			+	
			+	
			+	
			+	
			-	
			-	
			-	
			-	
			-	
			-	
			-	
			-	
			+	
iaz Zusatz von Ascorbinsäure 5% pH 3			+	Versuche in Nembutalnarkose (30 mg/kg i. p.) ausgeführt
ica Zusatz von Essigsäure pH 3			+	105 Sek. nach der Methylenblau-Injektion erfolgte Durchspülung d. ZNS von d. linken Herzkammer aus mit Formalin
beh. 25 Min. vor Farbinjektion mit Phosphat-Puffer			+	6%. Bauchorta wurde abgeklemmt und Jugulares durchtrennt. Durchströmungszeit 60 Min. Spüldruck 200 mm Hg.
50 pH 7,1			+	Auszug der Farbe aus 1 gr Hirn mit Äthylenglykol-mon
beh. 75 Min. vor Farbinjektion mit Rutin in 80 ccm			(+)	äthyläther. Messung erfolgte mit Pulfrich Photometer.
Mer-Lösung.			(+)	
beh. 2-12 St. vor Farbinjektion mit Rutin i. wässr.				
ung 0,2%.				
maltier			+	
istl. gesetzte Commotio cerebri			(+)	
istl. gesetzte Commotio cerebri			+	

Autor	Versuchstier	Indikator	Dosis	Applikation	Krämpfe	
Gerlach G. Becker H. 109)	Katze	Astraviolett FF Astraviolett FF Astraviolett FD Astraviolett FD				No ges No ges
Quadbeck G. Helmachen H. 25) u. 112)	Katzen 2-3,6 kg	Radiophosphor p^{32} Radiophosphor p^{32} Radiophosphor p^{32} Radiophosphor p^{32} Radiophosphor p^{32}	0,1 mc/kg 0,1 mc/kg 0,1 mc/kg 0,1 mc/kg 0,1 mc/kg	s. c. s. c. s. c. s. c. s. c.		No ges ges ges No
	Ratte	Radiophosphor p^{32} Methylenblau	0,1 mc/kg 16,7 mg/kg	s. c. i. v.		Vor Vor
	Ratte	Radioaktives Brom KBr^{82}	—	i. p.		(lor
		Br^{83} in einem Hydantoin gebunden	—	i. p.		(ge
		Methylenblau Methylenblau	16,7 mg/kg 16,7 mg/kg	i. v. i. v.		No Try
		p^{32} p^{32}	0,1 mc/kg 0,1 mc/kg	i. p. i. p.		No Try
		p^{32} p^{32} p^{32}	0,1 mc/kg 0,1 mc/kg 0,1 mc/kg	s. c. s. c. s. c.		No Cor Cor u.
		$^{24}NaCl$; ^{42}KCl ; ^{82}BrK $^{24}NaCl$; ^{42}KCl ; ^{82}BrK	— —	— —		No u.

Wirkstoff	Dosis	Applikation	BHS-Durchbruch	Bemerkungen
maltier tztzte Commotio cerebri maltier tztzte Commotio cerebri			- + - +	Traumatisierung d. Versuchstiere durch Pendel (195 cm Länge und 2,5 kg Gewicht). Versuche ohne Narkose durchgeführt. Zur Ruhigstellung d. Tiere 10 E/kg Curarin.
maltier tztzte Com. cer. tztzte Com. cer. u. Rutin tztzte Com. cer. u. Ammoniumchlorid maltier mit Ammoniumchlorid (2%)	100 mg/kg 100 mg/kg	i. p. i. p.	+ + + + + + + (+) +	Die Versuche wurden in Pernoktonnarkose (100 mg/kg) durchgeführt. Die Spülung erfolgte wie in 110) u. 111).
geh. mit 2,4-Dinitrophenol geh. mit 2,4-Dinitrophenol	15 mg/kg 15 mg/kg	i. p. i. p.	+ + +	
unden)		i. p.	+ + + +	
maltier anblau (1 St. vor Methylenblauinjektion)	250 mg/kg	i. p.	+ (+)	Trypanblau verringert den Übertritt von Methylenblau u. P in das ZNS.
maltier anblau (gleichzeitig m. p ³²)	250 mg/kg		+ (+)	
maltier motio cerebri 1 St. vor p ³² Injektion motio cerebri 1 St. vor p ³² Injektion enostasin	1 ccm/kg	i. p.	+ + + + + +	Die Tötung der Tiere erfolgte 24 Stunden nach der p ³² -Injektion.
maltier enostasin	$\frac{1 \text{ ccm}}{200 \text{ gr}}$	i. v. i. p.	+ + +	Für Kalium ist die BHS durch Venostasin abgedichtet; für Natrium nur zum Teil abgedichtet.

3. Versuche an der Blut-Hirn-Schranke mit sulfonierten, lipoidunlöslichen Farbstoffen

A. Versuche mit „Geigyblau med. 536“ als Schrankenindikator

Auf die zahlreichen, sich oft widersprechenden Arbeiten an der Blut-Hirn-Schranke wurde in der Einleitung hingewiesen. Es erscheinen deshalb einige Versuche angebracht, um folgende grundsätzliche Fragen zu klären:

1. Können sulfonierte, nicht lipoidlösliche Substanzen überhaupt in das ZNS eindringen.
2. Wenn nicht, gelingt es die Permeabilität des ZNS so zu verändern, daß diese Substanzen die Bluthirnschranke überschreiten können.

Als Schrankenindikator diene bei den folgenden Versuchen der lipoidunlösliche sulfonierte Farbstoff Geigyblau. Eine Veränderung der Permeabilität des ZNS soll durch Cardiazol, Coffein und Theophyllin bewirkt werden.

a. Allgemeine Versuchsanordnung und Technik

Als Versuchstiere dienten vorwiegend weiße Ratten. Alle Tiere wurden 3 Tage vor Versuchsbeginn in einen gleichmäßig temperierten Raum gebracht und einheitlich mit gemischtem Körnerfutter versorgt. Nach Beendigung des Versuches wurde der Thorax der Versuchstiere in Äther- oder Urethannarkose eröffnet, durch den linken Ventrikel eine Kanüle in die Aorta eingeschoben und dort mit einer Ligatur befestigt, die Aorta abdominalis abgeklemmt. Die Spülung der Gefäße des ZNS erfolgte von der Aorta aus mit 150 cm³ Ringerlösung unter variiertem Druck (50, 75, und 150 mm Hg). Der Spüldruck wurde durch ein in verschiedener Höhe feststellbares Gefäß reguliert. Das ZNS wurde frei präpariert, in Carnoy'scher Lösung (6 Teile Alkohol 96 %; 3 Teile Chloroformium puriss.; 1 Teil Ac. acet. 98—100 %) fixiert und Sagittal- und Frontalschnitte zur makroskopischen Betrachtung angefertigt.

Als Indikator diene der Farbstoff „Geigyblau 536 med.“. Mit Ringerlösung wird eine 1% Farblösung hergestellt, die im Dampfbad auf 60°C erhitzt, anschließend filtriert (Filter Nr. 597 von Schleicher und Schüll) und im Kühlschrank dunkel aufbewahrt wird. Wenn nicht besonders vermerkt, betrug die Injektionsmenge 1 cm³ Farblösung pro 100 gr Tier intravenös = 100 mg/kg. Die Spülung der Hirngefäße wurde bei allen Versuchstieren 45 Minuten nach der Farbinjektion durchgeführt.

b. Versuche in 4 Gruppen an weißen Ratten.

In den Versuch kamen 4 Gruppen zu 20 weißen Ratten, die je zur Hälfte aus männlichen und weiblichen Tieren bestanden. Um auch den Einfluß des Alters auf die Permeabilität des ZNS auszuschließen, wurden in jeder Versuchsgruppe sowohl junge wie auch alte Tiere mit einem Gewicht (ihrem Alter entsprechend) von 50—380 gr verwendet.

1. Gruppe: Versuchstiere, denen ohne Vorbehandlung der Farbstoff Geigyblau injiziert wurde. Ein Versuchsprotokoll sei hier wiedergegeben.

Protokoll Nr. 30

Ratte = 80 gr

18. 1. 58

8.45 h 0,8 ccm Geigyblaulösung 1% i. v.

9.30 h Äthernarkose — Spülung der Gefäße von der Aorta aus mit 150 ccm Ringerlösung von 25°C bei einem Druck von 75 mm Hg — Einlegen des freipräparierten Gehirns in Carnoy'scher Lösung.

2. Gruppe: Diesen Versuchstieren wurde außer der Farblösung Cardiazol injiziert. Die Dosis für Cardiazol betrug für alle Versuchstiere 40 mg/kg als 2% wässrige Lösung. Die Applikation des Cardiazol erfolgte entweder sofort mit dem Farbstoff als Mischinjektion oder 20 Minuten nach der Farbinjektion intravenös, intraperitoneal oder subcutan.

3. Gruppe: Versuchstiere, die mit Coffein vorbehandelt wurden.

Die Dosis letalis für Coffeinum purum wird von Bock und Bech Larsen 127) bei subcutanen Gaben an Ratten mit 130 mg/kg angegeben. In den folgenden Versuchen wurde eine 5% Lösung von Coffeinum natrio-benzoicum mit einem Gehalt von 40% Coffeinbase verwendet. Die angewandte Dosis betrug in der Regel 250 mg/kg Coff. natr. benz. täglich = 0,5 ccm/100 gr Ratte einer 5% wässr. Lösung subcutan. Das entspricht einer Dosis von 100 mg/kg Coffeinum purum.

Die Versuchstiere wurden an 3 aufeinanderfolgenden Tagen mit subcutanen Coffeininjektionen vorbehandelt. 45 Minuten nach der letzten Coffeingabe wurde der Farbstoff injiziert. Nach weiteren 45 Minuten erfolgte die Spülung in Äthernarkose wie beschrieben. Ein Protokoll sei wiedergegeben:

Protokoll Nr. 29

Ratte = 80 gr

16. 1. 58 9.00 h 0,4 ccm Coff. natr. benz. 5% s.c. (= 250 mg/kg)

17. 1. 58 9.00 h 0,4 ccm Coff. natr. benz. 5% s.c.

18. 1. 58 9.00 h 0,4 ccm Coff. natr. benz. 5% s.c.

Das Tier ist leicht erregt und reagiert heftig auf optische und akustische Reize.

9.45 h 0,8 ccm Geigyblau 1% i. v. (= 100 mg/kg)

10.30 h Spülung in Äthernarkose (150 ccm Ringerlösung; 25°C; Spüldruck 75 mm Hg).

4. Gruppe: Versuchstiere, die mit Theophyllin vorbehandelt wurden.

An Stelle von Coffein wird eine Dosis von 100 mg/kg Theophyllinbase injiziert, das sind 0,308 ccm/100 gr Ratte einer 5% wässrigen Lösung Theophyllin natr. acet. mit 65% Theophyllinbase.

Ergebnis:

Bei allen Versuchen sind in die Tiere unmittelbar nach der Farbinjektion leicht benommen. Nach einigen Sekunden ist ihr Verhalten wieder normal und unauffällig. Noch während der Injektion färbt sich die ganze Cutis der Tiere blau an. Diese Verfärbung ist besonders deutlich an unbehaarten Stellen zu sehen (Schwanz, Genitale, Extremitäten, Ohren, Schnauze). Die vorher roten Augen der Tiere erscheinen in einem tiefen, glänzenden Blauschwarz. Beim Brust- und Bauchsitus fällt die starke Blaufärbung der inneren Organe auf, wogegen Muskulatur kaum und Fettgewebe nicht gefärbt ist.

Bei der Eröffnung der Schädelhöhle zeigte sich, daß auch die Knochen des Schädeldaches unregelmäßig und fleckig verfärbt waren. Auch Dura mater und Arachnoides sind in ihrer ganzen Ausdehnung blau gefärbt und verleihen dem durch sie verdeckten Gehirn einen blauen Schimmer. Nach der Entfernung der Hirnhäute zeigten sich bei allen Versuchstieren immer Epiphyse, Hypophyse und Infundibulum angefärbt. Das Gehirn selbst ist bei den meisten Versuchstieren nicht angefärbt. Auf der Oberfläche dieser Gehirne sind die gut ge-

spülten Gefäße, wie Spinnweben silbrig glänzend, erkennbar. Aorta und Carotiden dagegen zeigten auch nach der Spülung eine blaue Verfärbung. Durch das Gehirn gelegte Frontal- und Sagittalschnitte zeigten auf den Schnittflächen keine blaue Verfärbung. Bei allen Gehirnen war jedoch der Plexus chorioideus stark blau gefärbt.



Skizze 7

Bei einigen Versuchstieren fand sich eine verschieden starke Anfärbung des ZNS. Diese scheinbare Anfärbung erstreckte sich vorwiegend auf die occipitalen Pole des Großhirns, entlang der Fissura interhemisphärica, und den dorsalen Kleinhirnwurm.

Frontal- und Sagittalschnitte zeigten, daß der Farbstoff nicht in die Tiefe gedrungen war, da die Schnittflächen dieser angefärbten Gehirne weiß waren.

Bei genauer Betrachtung der von der Oberfläche her angefärbten Stellen der Gehirne fiel auf, daß an diesen Stellen die Gefäße nicht richtig leergespült und zum Teil noch mit blauer Farbe gefüllt waren. Bei einigen Tieren, die unmittelbar nach der Injektion getötet wurden, fand sich an diesen Stellen nach der Spülung noch rotes Blut, das sich noch nicht mit dem blauen Farbstoff vermischt hatte.

Außerdem fiel bei diesen auftretenden Anfärbungen eine deutliche Abhängigkeit von dem jeweiligen Spüldruck auf. (s. Tabelle 4)

Spüldruck	Zahl der Tiere	Zahl der auftretenden Blaufärbungen am ZNS
50 mm Hg	28	20
75 mm Hg	23	13
150 mm Hg	26	6

Tabelle 4

Und zwar nahm die Anzahl der Blaufärbungen bei zunehmendem Spüldruck deutlich ab. Dadurch, sowie allein schon durch die makroskopische Betrachtung, wird es sehr unwahrscheinlich, daß es sich dabei um eine echte Gewebefärbung handelt. Vielmehr spricht das Auftreten einer Anfärbung des ZNS bei schlechter Spülung und das Fehlen einer Anfärbung bei gut gespülten Gefäßen dafür, daß es sich um ein bei der Spülung entstandenes Artefakt handelt.

Diese scheinbare Anfärbung der Gehirns substanz, die durch ungespülte Gefäße vorgetäuscht ist, wird im nachfolgenden Text als „Pseudoanfärbung“ bezeichnet.

Um einen vielleicht möglichen Einfluß der Äthernarkose auf die Pseudoanfärbung der Gehirne auszuschließen, wurde an 17 Tieren, bei sonst unveränderter Versuchsanordnung, eine Spülung mit einem Druck von 150 mm Hg in Urethannarkose durchgeführt (Äthyl-Urethan 20% Lösung in Aqua dest. 0,5 ccm/100 gr Tier i.p. = 1 gr/kg). Von diesen 17 Tieren zeigte sich nur bei 2 Tieren eine leichte Pseudoanfärbung.

Bei Ratten, die eine Äthernarkose erhalten hatten (Spüldr. 150 mm Hg), verhielten sich die Ungefärbten zu den angefärbten Gehirnen wie 3,3 : 1 (20 : 6); bei Ratten mit Urethannarkose jedoch wie 7,5 : 1 (15 : 2). Das Verhältnis ungefärbter zur angefärbten Gehirne hat sich durch eine Urethannarkose fast um die Hälfte zu Gunsten der ungefärbten Gehirne verschoben. Durch eine Urethannarkose werden also die Bedingungen für eine Spülung der Gehirngefäße verbessert.

Um den Einfluß der Applikationsart und der Farbdosis auf die Versuchsergebnisse zu überprüfen, wurden folgende Versuche durchgeführt:

Einer Ratte wurden 100 mg/kg Geigyblau 1% intraperitoneal verabreicht. Nach 24 Stunden erfolgte die Spülung in Äthernarkose wie beschrieben. Das Gehirn war ungefärbt. Die Anfärbung der Haut hatte erst 8 Stunden nach der Farbinjektion dieselbe Intensität wie bei intravenösen Gaben erreicht.

Eine Ratte erhielt an drei aufeinanderfolgenden Tagen 100 mg/kg Geigyblau injiziert. Die erste Injektion erfolgte intravenös, die beiden folgenden subcutan. Am 4. Tag erfolgte die Spülung in Äthernarkose wie beschrieben. Das Gehirn war ungefärbt.

Eine Ratte wurde 45 Minuten nach der Injektion von 100 mg/kg Geigyblau 1% i.v. durch Dekaptieren getötet. Die Gehirngefäße sind zum Teil noch mit Farbe gefüllt. Eine Beurteilung des Gehirnes war deshalb nicht möglich.

Eine Ratte erhielt 100 mg/kg Geigyblau 1% intravenös. Nach 42 Tagen zeigte die Haut des Tieres noch eine Blaufärbung. Das freipräparierte Gehirn zeigte sich nach einer Spülung in Äthernarkose ungefärbt. Die Meningen, der Plexus chor., die Epiphyse, die Hypophyse und das Infundibulum waren noch blau gefärbt (= Stellen physiolog. Anfärbung).

Eine Ratte wird in Urethannarkose unter Erhaltung der Hirnhäute über beiden Großhirnhemisphären trepaniert (Trepan 4 mm ϕ). Danach werden dem Tier 100 mg/kg Geigyblau 1% in die Schwanzvene injiziert. Noch während der Injektion färben sich die Hirnhäute stark blau. Die schwarzblau erscheinenden Gefäße sind gut erkennbar. Die Hirnhäute werden entfernt. Das Gehirn zeigt jetzt eine diffuse blaue Verfärbung. Ein Teil der Cortex wird mit einer Nadel zerstört. Nun erfolgt die Spülung in Äthernarkose wie beschrieben. Die Gefäße spülen sich leer. Die unverletzte Cortex wird langsam weiß. Hypophyse, Infundibulum, Epiphyse und der Bereich, in dem die Cortex zerstört wurde, haben sich blau gefärbt.

Die Versuche der Gruppe 2 mit Cardiazol zeigten keinen wesentlichen Unterschied im Vergleich zu den Versuchen an den Kontrolltieren. Außer der beschriebenen Pseudoanfärbung, die an einigen Gehirnen zu sehen war, konnte kein Durchbruch der BHS gesehen werden. Nur zeigte sich in dieser Gruppe besonders deutlich die Abhängigkeit der Pseudoanfärbung von der Größe des Spüldruckes.

So zeigte sich bei einem Spüldruck von 50 mm Hg von 17 Versuchstieren bei 16 eine Pseudoanfärbung, während bei einem Spüldruck von 150 mm Hg bei 11 Tieren keine Pseudoanfärbung auftrat.

Eine Ratte wurde wie beschrieben über beiden Hemishären trepaniert. Auf die Cortex wurde eine Cardiazollösung aufgetropft, sowie intracerebral kleine Mengen einer Cardiazollösung injiziert. Das Verhalten des narkotisierten Tieres blieb unverändert. Nach einer Spülung waren nur die Stichkanäle angefärbt.

Variationen der Cardiazoldosis (20-80 mg/kg) und der Applikationsart (i.v., s.c., i.p. und Mischinjektion) hatten keinen Einfluß auf die Intensität und die Häufigkeit des Auftretens einer Pseudoanfärbung. Maßgebend für die Häufigkeit der Pseudoanfärbung war lediglich die Größe des Spüldruckes.

Die frei gewählte Cardiazoldosis von 40 mg/kg hatte den Vorteil, daß sie bei intravenöser Anwendung genügend hoch über der Krampfschwellendosis lag, ohne eine Dosis letalis zu sein.

Applikation	Dosis letalis mg/kg	Krampfschwelle mg/kg
s.c.	60—200	30—100
i.p.	50— 90	25
i.v.	50	20

Dosis letalis und Krampfschwellendosis von Cardiazol bei Ratten.

Tabelle 5
(nach der Cardiazolmonographie 126)

Bei 2 Ratten, die nach Gaben von 40 mg/kg in Mischinjektion starben, wurde zu verschiedenen Zeiten eine postmortale Spülung durchgeführt (Spüldruck 150 mm Hg.).

1. Spülung 45 Min. nach dem Tode; ZNS weiß
2. Spülung 24 Stunden nach dem Tode; ZNS blau.

Eine einwandfreie Beurteilung des ZNS des 2. Tieres war nicht möglich, da sich nur wenige Gefäße leerspülten. Es scheint sich jedoch auch hierbei um eine Pseudoanfärbung zu handeln, da in der Umgebung leergespülter Gefäße eine Aufhellung der diffus erscheinenden Blaufärbung zu erkennen war.

Bei 2 Ratten wurde an 6 aufeinanderfolgenden Tagen durch intravenös Injektionen von 30 mg/kg Cardiazol ein Krampfanfall ausgelöst. Mit der 6. Cardiazolinjektion wurde zugleich Geigyblau injiziert. Die Spülung erfolgte 45 Min. nach der Farbinjektion in Äthernarkose. Die Gehirne beider Versuchstiere waren ungefärbt.

Ebenso wurden die Versuchsbedingungen für die Gruppe 3 mit Coffein verändert. So wurde einer Ratte Coff. natr. benz. als Mischinjektion mit Geigyblau intravenös injiziert. Kurze Zeit nach der Injektion traten bei dem Tier klonische Krämpfe auf, die ungefähr 2 Min. anhielten. Spülung wie beschrieben. Das Gehirn ist nach der Präparation ungefärbt.

Eine Ratte wurde 5 mal mit Coffeinum natr. benz. vorbehandelt. Die Spülung in Äthernarkose erfolgte nach 4 Tagen. Das Gehirn des Tieres zeigte nur eine Pseudoanfärbung.

Eine Ratte erhält unter sonst unveränderten Versuchsbedingungen an 3 Tagen die doppelte Menge von Coff. natr. benz. (=500 mg/kg s.c. pro die). Kurz nach der 1. Injektion treten heftige klonische Krämpfe auf. Nach einer 2. Injektion treten die Krämpfe erst nach 1 Stunde in leichter Form auf. Unmittelbar nach der 3. Injektion treten sehr heftige klonische Krämpfe auf. Das Gehirn des Tieres zeigte sich nach der Spülung ungefärbt.

Zusammenfassend kann also gesagt werden, daß die BHS für den Farbstoff Geigyblau auch durch Cardiazol, Coffein und Theophyllin nicht überwunden werden kann. Bei den Theophyllinversuchen fällt jedoch auf, daß von 20 Ratten die Gehirne bei nur 2 Tieren eine Pseudoanfärbung aufweisen und dies nur bei niederem Spüldruck.

Daraus ergibt sich, daß nach einer Vorbehandlung mit Theophyllin die Bedingungen für eine Spülung der Gehirnfäße **wesentlich** verbessert werden. Es liegt die Vermutung nahe, daß Theophyllin den Zustand der Gehirngefäße so verändert, daß alle Gefäße gut von der Spülflüssigkeit durchströmt werden können. In der Diskussion soll darauf noch eingegangen werden.

c. Versuche an der Blut-Hirn-Schranke mit Histamin, Mintacol, Luronase und im 02 - Mangel.

(Als Indikator dient der Farbstoff Geigyblau)

1. Histamin

Im Gegensatz zu den meisten Kapillargiften wirkt Histamin besonders toxisch auf die Kapillaren des Gehirns 79). In kleinen Dosen erwirkt es zunächst eine Gefäßerweiterung. In großen toxischen Dosen können jedoch die Gefäße so stark geschädigt werden, daß es zu einem Austritt von Blutplasma aus den Kapillaren kommt 128). An einer Ratte wurde untersucht, ob sich die BHS durch Histamin so verändern läßt, daß sie für den Farbstoff Geigyblau durchlässig wird. Das Versuchstier erhielt 5 mg/kg Histamin einer 0,1% wässer. Lösung subcutan injiziert. 20 Minuten später erfolgte die Farbinjektion. Nach weiteren 30 Minuten Spülung in Äthernarkose. Bis auf Stellen physiologischer Anfärbung war das Gehirn ungefärbt.

Eich und Wiemers 81) sahen ebenfalls keine Anfärbung des ZNS mit Trypanblau nach intraarteriellen Gaben von 1 und 2 mg Histamin beim Hund und bei der Katze. Das heißt, daß es auch mit Histamin nicht gelingt, die BHS für Trypan- und Geigyblau zu durchbrechen.

Dem Einwand, man könne aus der geringen Anzahl der Versuche, zumal es sich noch um 2 verschiedene Farbstoffe handele, keine Folgerungen ziehen, soll in der Diskussion begegnet werden.

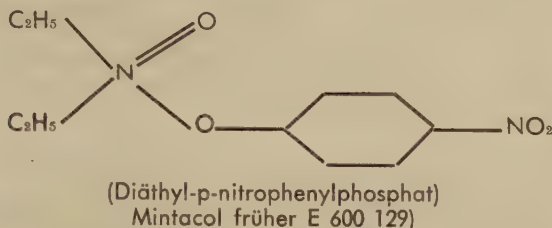
Es sei aber gesagt, daß man auf Grund der Kenntnisse über die BHS nur dann eine Anfärbung des ZNS erwarten konnte, wenn die Kapillaren des ZNS so schwer geschädigt worden wären, daß es zu einem Austritt von Blutplasma aus den Gefäßen gekommen sei. Dies scheint bei den angewandten Histamindosen nicht der Fall zu sein.

2. Mintacol

Greig und Mayberry 106) fanden eine erhöhte Permeabilität der BHS für Säurefuchsin und Barbiturate nach Hemmung der Cholinesterase durch Physostigmin.

„Mintacol soluble“ wird von der Firma Bayer als Mioticum in den Handel gebracht. Es ist eine lipoidlösliche synthetische organische Phosphorverbindung

aus der Gruppe der Phosphorsäureester, der auch das bekannte E 605 angehört, und ist wie diese Substanzen ein guter Cholinesterasenhemmer (ChEH).



Im Gegensatz zu lipoidunlöslichen ChEH vermag es in das ZNS einzudringen und dort zu wirken.

Die Cholinesterasehemmung im ZNS beträgt bei der Maus (0,5 mg/kg Mintacol i.m.) bereits nach 15 Minuten 80% und nach 40 Stunden immer noch 40% (132).

Mit Hilfe von Mintacol als ChEH soll untersucht werden, ob es durch eine Permeabilitätssteigerung gelingt, die BHS für Geigyblau durchlässig zu machen. Die Versuchstiere (Ratten und Mäuse) erhielten 30 Minuten nach der intramuskulären Mintacolinjektion den Farbstoff Geigyblau i.v. verabreicht. Nach weiteren 30 Minuten erfolgte die Spülung wie beschrieben.

Die Gehirne der Tiere zeigten nach der Spülung die bereits beschriebene Pseudoanfärbung.

In ihren Versuchen sahen Greig und Mayberry nach Hemmung der ChE einen Übertritt von Säurefuchsin bei Fröschen in das ZNS und führten es auf eine gesteigerte Permeabilität zurück. Dieses an Kaltblütern gefundene Ergebnis kann jedoch nicht einfach auf Warmblüter übertragen werden.

Bei Ratten und Mäusen konnte bei sicher gesteigerter Permeabilität des ZNS durch Theophyllin selbst bei intravenösen Gaben von 600 mg/kg Säurefuchsin niemals eine Anfärbung des Gehirnes gesehen werden. Versuche mit Mintacol und Säurefuchsin wurden nicht durchgeführt. Sollte sich jedoch nach Gaben von Mintacol Säurefuchsin in das ZNS bringen lassen, was sehr unwahrscheinlich ist, so beruht es sicherlich nicht auf einer gesteigerten Permeabilität, wie noch gezeigt werden soll.

Ebenso beruht eine durch Cholinesterasehemmung verursachte Verlängerung einer Barbituratnarkose, wie Holz, Balzer und Westermann (132) zeigten, nicht auf einer gesteigerten Permeabilität der BHS, sondern darauf, daß durch ChEH eine „adrenergische narkoseverlängernde Reaktion“ ausgelöst wird.

3. Luronase

Kelentei (85) fand nach einer Behandlung mit Hyaluronidase einen vermehrten Übertritt von Penicillin in das ZNS.

Es wurde bereits erwähnt (s. Seite 27), daß mit Hilfe der PAS-Färbung an den Gehirnkapillaren eine Grundsubstanz nach Ausbildung der Schrankenfunktion nachweisbar werde. Eine etwaige Homologie zu der Kittsubstanz mesenchymaler Gewebe wurde in Betracht gezogen. Hyaluronidase, ein zur Gruppe der Desmolasen gehörendes Kohlenhydrat spaltendes Ferment, soll die Eigenschaft besitzen, diese Kittsubstanz aufzulockern, d.h., vom Gel- in den Solzustand überzuführen.

Mit Hilfe von Luronase soll untersucht werden, ob es gelingt, die Grundsubstanz der Gehirnkapillaren (die zum Teil aus Mucopolysacchariden bestehen soll) aufzulockern, sodaß damit dem Farbstoff die Möglichkeit gegeben wird, in das ZNS einzudringen, wie z. B. Trypanblau am Gehirn sehr junger Tiere, bei denen diese Grundsubstanz noch nicht nachweisbar ist.

3 Ratten erhielten zusammen mit 100 mg/kg Geigyblau 100 VRE Luronase in Mischinjektion i. v.. Nach 50 Min. erfolgte die Spülung in Urethannarkose. Die Gehirne der 3 Tiere waren ungefärbt.

4. 02-Mangel

Pentschew 79) weist bereits auf die Bedeutung der Hypoxydase auf die Permeabilitätsverhältnisse am ZNS hin.

Zwei Ratten (65 und 70 gr) wurden 25 Minuten nach der Farbinjektion in ein verschlossenes Gefäß von 600 ccm Inhalt gebracht. Nach 55 und 50 Minuten trat unter leichten Krämpfen bei beiden Tieren der Erstickungstod ein.

Eine dritte Ratte (270 gr) wurde nach der Farbinjektion in ein verschlossenes Gefäß von 1000 ccm gesetzt. Das Tier starb unter leichten Krämpfen nach 35 Minuten.

Die Gehirne der Versuchstiere zeigten nach einer postmortalen Spülung eine leichte Pseudoanfärbung.

Auch Eich und Wiemers 81) gelang es nicht, im akuten 02-Mangel die BHS für Trypanblau zu durchbrechen.

Zusammenfassung

1. Der Farbstoff Geigyblau vermag weder unter physiologischen Bedingungen, noch nach Gaben von Cardiazol, Coffein, Theophyllin, Luronase, Mintacol und im 02-Mangel die BHS zu überschreiten.
2. Bei allen Versuchstieren färbten sich nur Hypophyse, Infundibulum, Epiphyse, Meningen und Plexus chor. blau an = Stellen physiologischer Anfärbung.
3. Einige Gehirne zeigten eine scheinbare Blaufärbung. Dabei handelte es sich um Artefakte, die durch eine ungenügende Spülung bedingt sind und als Pseudoanfärbungen bezeichnet wurden. Denn bei zunehmendem Spüldruck nahm die Zahl der Gehirne, die eine Pseudoanfärbung aufwiesen, ab.
4. Nur dort wo Cortex und Gefäße mechanisch zerstört wurden, zeigte sich lokal eine echte Anfärbung.
5. In der Gruppe 4, bei den Versuchen mit Theophyllin, fällt gegenüber den anderen Gruppen auf, daß kaum eine Pseudoanfärbung auftrat, die Bedingungen für eine Gefäßspülung demzufolge durch Theophyllin wesentlich verbessert wurden.

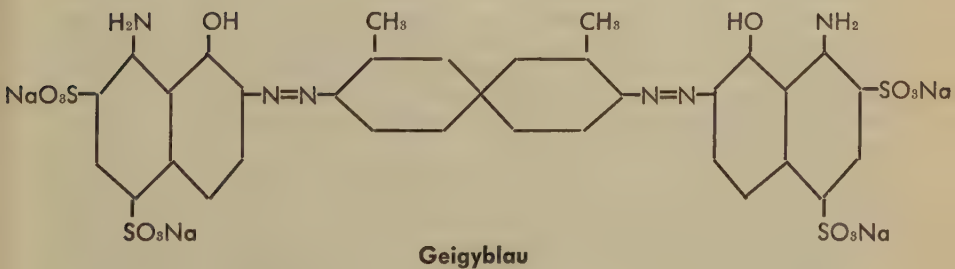
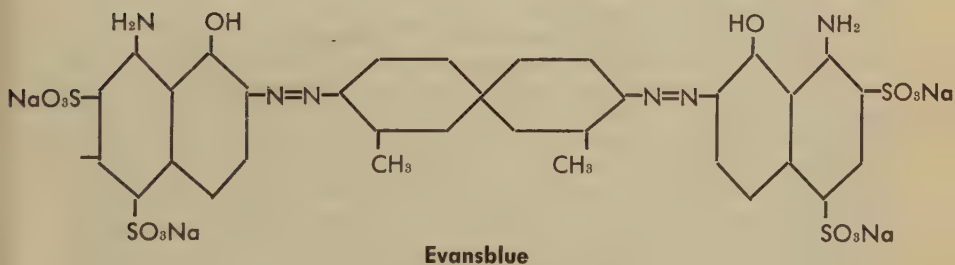
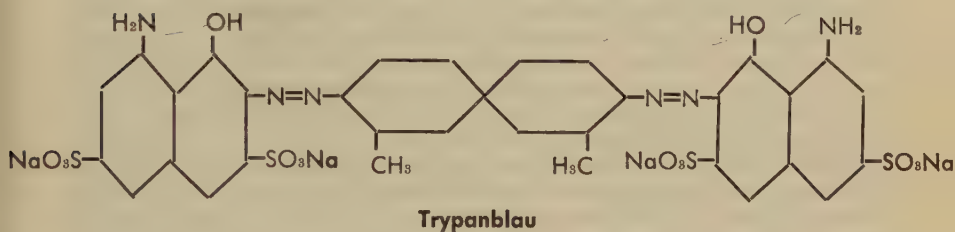
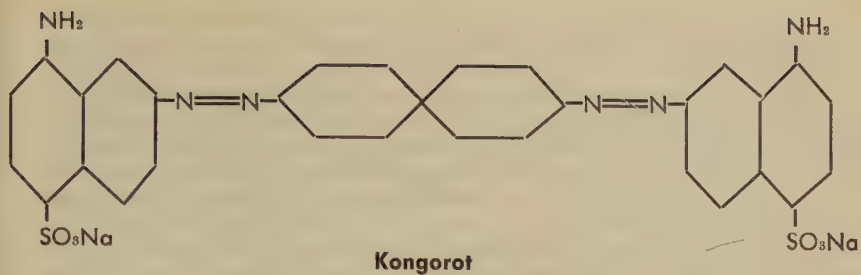
d. Diskussion

1. Der Farbstoff

Einer der ältesten und meistgebrauchten Indikatoren für Untersuchungen an der BHS ist der Farbstoff Trypanblau. Von Goldmann 5) bereits 1913 angewandt, hat er bis heute seine Bedeutung in der Blut-Hirn-Schrankenforschung noch nicht verloren. Einige Jahre nach den Versuchen Goldmanns wurde dieser Farbstoff für eine kurze Zeit in die Therapie der Metalues eingeführt.

Neben dem Trypanblau wurde in der BHS-Forschung noch sehr häufig das Kongorot verwendet. Es steht dem Trypanblau chemisch sehr nahe.

Das in dieser Arbeit verwendete Geigyblau wurde, soweit aus der Literatur zu ersehen war, zum erstenmal von Leonhardt 76) benutzt.



Geigyblau med. 536, ein Isomer des Trypanblau, ist wie dieser ein kolloidaler wasserlöslicher Tolidindisazofarbstoff mit schwach sauren Eigenschaften und einem Molekulargewicht von 960,8.

Schon auf Grund der Ähnlichkeit ihrer chemischen Struktur und ihrer physikalischen Eigenschaften kann angenommen werden, daß Trypan- und Geigyblau in Bezug auf die BHS gleiches Verhalten zeigen. In dem Folgenden dürfte dies noch deutlicher zum Ausdruck kommen. Es ist dies deshalb von Bedeutung, weil nämlich die mit Trypanblau erzielten Ergebnisse mit denen des Geigyblau verglichen werden können.

Ein Rattenhirn wurde 24 Stunden lang in eine Lösung mit Geigyblau eingelegt. Die Schnittflächen nach der Entnahme aus der Farblösung durch das Gehirn gelegter Schnitte waren weiß. Nur von der Oberfläche her war der Farbstoff ungefähr 1 mm tief in die Gehirnsubstanz hineindiffundiert. Das dürfte übereinstimmen mit den von Schmid (s. Tab. 1) gefundenen Diffusionstiefen für Trypanblau in Gelatine, sowie mit den Befunden von Spatz 21) für Trypanblau im Gehirn nach subarachnoidaler Injektion. Das heißt, daß für Geigy- und Trypanblau auch ein gleiches Diffusionsvermögen am Gehirn besteht.

Wie aber verhält es sich mit dem Stoffaustausch zwischen Blut und Gehirn in Bezug auf die Diffusion?

Richtet sich der Stoffaustausch zwischen Blut und Gehirn nur nach den Diffusionsgesetzen, dann müßte sich das ganze Gehirn, selbst bei geringer Dispersität eines Farbstoffes anfärben, da ja das ganze Gehirn von Kapillaren durchzogen ist, deren Abstand von einander weniger als 1 mm beträgt. Da dies nicht der Fall ist, darf eine zwischen Blut und Gehirn bestehende Schranke, die bestimmte Stoffe hindert, in das ZNS einzudringen, nicht als eine Diffusionsschranke gedeutet werden.

Hierzu noch folgende Überlegung. Spatz 21) findet für saure Farbstoffe eine Abhängigkeit ihres Diffusionsvermögens von ihrem Dispersitätsgrad. Physikalisch gesehen ist dies richtig, denn es ist logisch, daß durch eine Membran mit einer bestimmten Porengröße nur Stoffe bis zu dieser Porengröße durchtreten können. Es könnte nun sein, daß die Dispersität, d. h. die Teilchengröße von semikolloidalen und grobdispersen anodischen Farben, wie z. B. Geigy- und Trypanblau, größer als die Poren der Endothelmembran wären. Dann müßte aber auch eine Blut-Hirn-Schranke für basische Farben bestehen, deren Dispersitätsgrad dem des Geigy- und Trypanblau entspricht. Da dies jedoch, wie Spatz selbst findet, nicht der Fall sei und alle basischen Farben, gleich welchen Dispersitätsgrades, die BHS überschreiten könnten, so ist nicht anzunehmen, daß eine BHS für eine Substanz durch deren Dispersitätsgrad bedingt ist.

Schubert 133) zeigte, daß Geigyblau mit einem Molekulargewicht von 960 kaum in Gelatine hineindiffundiert. Setzte er jedoch der Farblösung Kollidon mit einem Molekulargewicht von 26800—100000 zu, so diffundierte der Farbstoff bis zu der für Kollidon üblichen Tiefe. Das gleiche Ergebnis erhielt er nach Zusatz von Serum, wobei Geigyblau mit den Albuminen in Gelatine eindrang. Dadurch ist es fraglich geworden, ob überhaupt das Diffusionsvermögen von der Dispersität abhängig ist.

Daraus ergibt sich, daß das Schrankengeschehen nicht durch Diffusion und Dispersität der Substanzen erklärt werden kann. Daraufhin weist schon die Tatsache, daß Serumweiß ein viel größeres Diffusionsvermögen als Geigyblau besitzt, ohne die BHS unter physiologischen Bedingungen zu überschreiten.

Ehrlich 2) fand, daß nach Einführung einer $-\text{SO}_3$ Gruppe in eine toxische Substanz diese ihre Giftigkeit verliere.

Die Ungiftigkeit sulfonierter Substanzen führt er darauf zurück, daß ihnen durch eine Bindung an das Blut die Möglichkeit genommen werde, in das ZNS einzudringen und dort toxisch zu wirken.

Einer Ratte werden 2 Minuten nach einer intravenösen Injektion von 100 mg/kg Geigyblau 1%, 2 cm³ Blut durch intracardiale Punktion entnommen und zentrifugiert. Der undurchsichtige blaue Überstand wird abgegossen und mit Trichloressigsäure 20% versetzt. (Geigyblau löst sich ausgezeichnet in Trichloressigsäure, ohne auszufallen oder seine Farbe zu verlieren.) Der Farbstoff fällt mit dem Eiweiß aus, der filtrierte Überstand ist klar, farblos und durchsichtig.

Die Blutkörperchen dieses Tieres hämolysieren in Aqua dest. mit klarer roter Lackfarbe.

Gleiche Versuche wurden mit dem basischen Farbstoff Neutralrot (50 mg/kg i.v.) durchgeführt. Der nach Eiweißfällung filtrierte Überstand ist rot gefärbt.

Aus dem Filtrerrückstand, der bei beiden Versuchen gefärbt ist, läßt sich Neutralrot leicht und vollständig mit Carnoy'scher Lösung, schwer und unvollständig mit Wasser auswaschen. Geigyblau dagegen ist weder mit Wasser noch mit Carnoy'scher Lösung aus dem gefällten Eiweiß auswaschbar.

Weder durch Kochen mit KOH 10% oder HCl 10%, noch durch Eiweißverdauung mit Trypsin ist es gelungen, den Farbstoff Geigyblau vom Eiweiß, bzw. von seinen Bruchstücken zu trennen, um ihn quantitativ erfassen zu können.

Eine Bindung des Geigyblau an Eiweiß wurde auch von Schubert (133) durch Elektrophorese nachgewiesen. Der Farbstoff war vorwiegend an die Serumalbumine gebunden.

Für eine Plasmabindung sulfonierter Farbsäuren spricht auch, daß selbst eine Stunde nach dem Tode das ZNS sich nicht mit Geigyblau angefärbt hat, wobei anzunehmen ist, daß eine physiologische BHS nicht mehr besteht.

Erst 12 Stunden nach dem Tode finden Becker und Quadbeck (108) einen BHS-Bruch für Geigyblau. Es dürfte so zu klären sein, daß nach 12 Stunden die Verwesung so weit fortgeschritten ist, daß es zur Auflösung der trennenden Schicht, d. h. zum Undicht werden der Gefäße kommt und damit zu einem Austritt von Serumeiweiß in das umgebene Gewebe. Der an dieses Eiweiß gebundene Farbstoff scheint dadurch eine Anfärbung des ZNS vorzutauschen.—Geigyblau das kaum nierenfähig ist (133), erscheint bei bestehender Albuminurie im Urin, und zwar an das Eiweiß gebunden. Das stellt eine Analogie zur postmortalen Anfärbung des ZNS dar.—

So schreibt Eich und Wiemers (81), daß nur ein Gefäßschaden die BHS für Trypanblau durchgängig machen kann. Bei Versuchen, in denen dieser Farbstoff im ZNS nachgewiesen worden sei, ohne daß Verdacht auf Endothelschaden bestehe, könnten Einwände gegen die Methodik erhoben werden (z. B. keine Spülung der Gehirngefäße).

Schubert (133) (134) und Schneider (135) benutzten den Farbstoff Geigyblau zur Bestimmung der zirkulierenden Blutmenge, da er schlecht vom Gewebe resorbiert und kaum durch die Nieren ausgeschieden wird. Schneider (135) findet eine Ausscheidung durch die Nieren für Geigyblau nach 3 Stunden — 8%, 24 Stunden — 50%, 6 Tagen — 80% —. Nach Gaben von Kollidon wird dieser Farbstoff nierenfähig, so daß schon nach 4 Stunden bis zu 70% des Farbstoffes ausgeschieden wurden. Das heißt, der grobdisperse Farbstoff Geigyblau mit einem Molekulargewicht von 960, der die Nierenmembran nicht passieren kann, wird nach einer Bindung an Kollidon mit einem Molekulargewicht von 26.000 — 100.000 und darüber nierenfähig. Daraus geht hervor, daß die Fähigkeit, bzw. Unfähigkeit eines Stoffes, eine physiologische Membran zu überschreiten, un-

abhängig von seinem Molekulargewicht, seiner Molekülgröße und seinem Dispersitätsgrad sein kann.

Die Ursache für die Unfähigkeit die Nierenmembran zu überschreiten, sehen sie darin, daß Geigyblau zu fest an das Serumalbumin gebunden ist. Das heißt, es geht nicht um die Frage, ob dieser Farbstoff auf Grund seiner chemischen Struktur durch eine Membran permeieren kann, da ihm durch eine feste Eiweißbindung dazu die Möglichkeit nicht gegeben ist. Kollidon jedoch besäße die Fähigkeit, diese Eiweißbindung zu lösen und selbst mit dem Farbstoff eine Bindung einzugehen. Diesen Vorgang bezeichnen sie als „Serumwäsche“.

Diese an der Niere gefundenen Ergebnisse können natürlich nicht auf die BHS übertragen werden, aber eine gewisse Analogie zu den Vorgängen an der BHS dürften sie doch darstellen.

Durch die Fähigkeit sulfonierter Farbstoffe mit dem Serumweiß eine feste Verbindung einzugehen ist es zunächst fraglich geworden, ob es sich bei der BHS für sulfonierte Farbstoffe um ein Permeabilitätsproblem handelt.

2. Die Versuchsergebnisse

a) eigene Ergebnisse

An einem Tier, bei dem nach der Farbinjektion keine Spülung der Gehirngefäße vorgenommen wurde, konnte gezeigt werden, daß zur exakten Beurteilung über eine im ZNS stattgefundene Anfärbung eine Spülung der Gefäße notwendig ist.

Eine Spülung der Gehirngefäße vom Aortenanfang aus hat den Vorteil, daß der Spüldruck und Spülmenge über alle in das Gehirn führende Gefäße physiologisch verteilt wird. Durch einen Einschnitt in den rechten Vorhof des Herzens wurde ebenso ein Abfluß aus den Gehirngefäßen unter physiologischen Bedingungen gewährleistet.

Dem Einwand, es sei in den beschriebenen Versuchen eine Anfärbung des ZNS deshalb nicht gesehen worden, weil durch die nachfolgende Spülung der Farbstoff wieder aus dem Gehirn ausgewaschen worden wäre, kann begegnet werden.

Der Farbstoff Trypanblau geht, wie in der Diskussion des Farbstoffes gezeigt, mit dem Eiweiß des Gehirns, wenn er dorthin gelangt, eine solch feste Verbindung ein, daß er durch eine Spülung mit Ringerlösung nicht ausgewaschen werden kann.

Daß es sich bei den Pseudoanfärbungen nicht um einen BHS-Durchbruch handelt, sondern um Artefakte, die durch eine ungenügende Spülung bedingt sind, wird durch folgende Beobachtungen bestätigt:

1. In der Regel konnten bei Gehirnen im Bereich der Pseudoanfärbungen ausgespülte mit Farbstoff und Blut gefüllte Gefäße beobachtet werden.

2. An den Gehirnen dekaptierter Tiere, die keinen Farbstoff erhalten hatten, sah man in den Gefäßen noch Blut, und zwar in den Gebieten, in denen bei anderen Tieren eine Pseudoanfärbung auftrat.

3. Bei einem Tier, das unmittelbar nach der Farbinjektion getötet wurde, waren an den Stellen, wo gewöhnlich eine Pseudoanfärbung auftrat, die Gefäße mit Blut gefüllt, das sich noch nicht mit dem Farbstoff vermischt hatte, wogegen andere Gefäße mit Farbstoff gefüllt waren.

Dieser Befund wurde auch von Eich und Wiemers 81) beschrieben.

4. Bei Tieren, die unmittelbar nach der Injektion von Neutralrot getötet wurden, zeigte das Gehirn an den Stellen, an denen sonst mit Geigyblau eine

Pseudoanfärbung auftrat, eine geringere Farbintensität im Vergleich mit dem übrigen Gehirn. Das heißt, es handelt sich um solche Gebiete, die physiologisch schon weniger stark durchblutet sind (Versorgungsgrenzgebiete).

5. Mit zunehmendem Spüldruck nimmt die Intensität und Häufigkeit des Auftretens einer Pseudoanfärbung ab.

6. Eine echte Anfärbung des ZNS konnte nur dort gesehen werden, wo am Gehirn Läsionen gesetzt wurden, sodaß es zu einem Blutaustritt aus den Gefäßen kam.

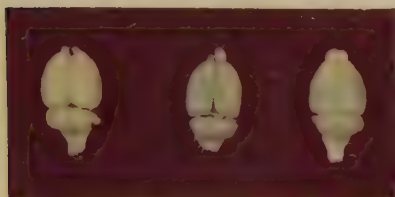
7. Die Ergebnisse anderer Autoren sprechen dafür, daß sulfonierte, lipoid-unlösliche Farbsäuren nicht in das ZNS eindringen können.

8. Eich und Wiemers 81) fanden im Bereich der Pseudoanfärbung Farbbrocken in den Gefäßen und nahmen an, daß es sich um eine Farbbembolie handelte.

9. Weiter zeigten sie, daß sich bei einer fraktionierten Spülung die Gebiete, in denen gewöhnlich eine Pseudoanfärbung auftrat, zuletzt leerspülten. Sie finden, daß dort wo eine Pseudoanfärbung auftritt, es sich um schon physiologisch minderdurchblutete Gebiete handelt.

10. Gehirne mit einer Pseudoanfärbung waren stets nur oberflächlich angefärbt.

Allein schon für die Pseudoanfärbung bezeichnend ist ihr unregelmäßiges Auftreten (s. Abb. 1) im Vergleich zum homogenen Farbbild einer echten Anfärbung mit Neutralrot (s. Abb. 2), wie später ausführlich zu zeigen sein wird. Zum Zwecke des Vergleichs wird das analoge Neutralrotbild vorweg gezeigt.



Gehirn A: Spüldruck 150 mm Hg

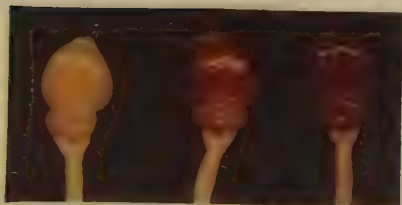
Gehirn B: ohne Spülung

Gehirn C: Spüldruck 50 mm Hg

Alle Tiere erhielten 100 mm/kg

Geigyblau

(Blende 22; Belicht.: 1 Sec.)
Agfacolor-Negativfilm
Abbildung 1



Gehirn A: ohne Farbinjektion

Gehirn B: 50 mg/kg Neutralrot
1 % i. v.

Gehirn C: 100 mg/kg Neutralrot
1 % i. v.

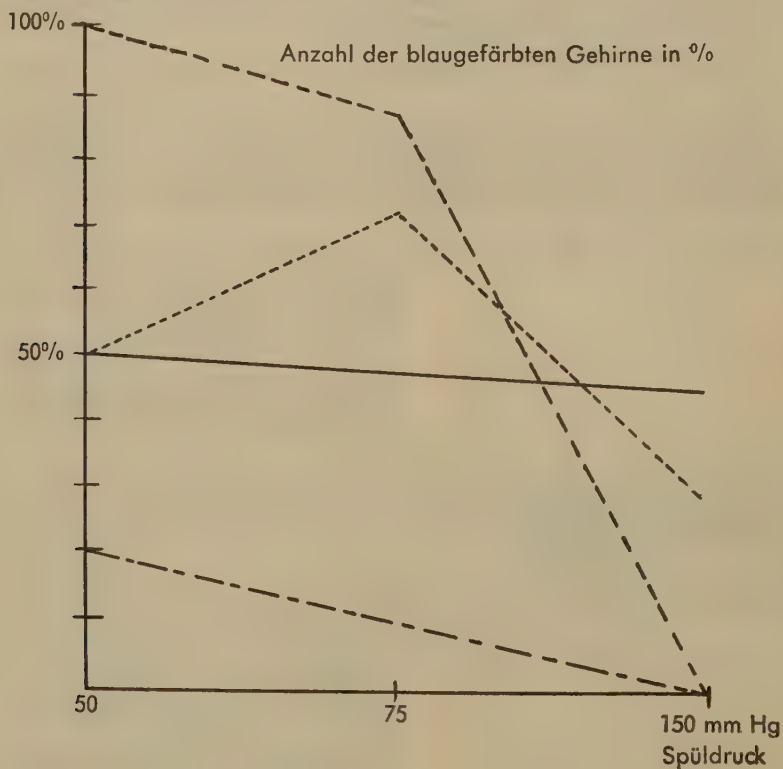
Spüldr. b. allen Tieren 150 mm Hg

(Blende 11; Belicht.: 1 Sec.)
Abbildung 2

Gerlach und Becker 109), die eine posttraumatische Anfärbung des ZNS mit Astraviolett gesehen haben, schreiben, daß es sich dabei nicht unbedingt um einen Schrankenbruch handeln müsse, sondern auch um Gefäßregulationsstörungen, die besonders im Bereich der Versorgungsgrenzgebiete der Arterien auftraten und eine Spülung dieser Grenzgebiete vereitelte, sodaß der Farbstoff in den Gefäßen liegen bleibe und erst postmortal in das ZNS eindringe.

Durch die Spülung der Hirngefäße mit Ringerlösung wird zugleich ein allgemeines Gehirnödem ausgelöst, das natürlich auch die Gefäße mit einbezieht. Vorwiegend sind auch hier die Versorgungsgrenzgebiete der Gehirnarterien betroffen, da sie nach der Eröffnung des Thorax zuerst an O₂-Mangel leiden.

Durch die ödematöse Verquellung der Gefäße wird besonders in diesen Gebieten eine Spülung erschwert oder vereitelt.



- Cardiazolversuche
- Coffeinversuche
- . - . - Theophyllinversuche
- Kontrolltiere

Tabelle 6

Eine diffuse Pseudoanfärbung ist in der Umgebung ungespülter Gefäße zu sehen. Es ist jedoch verständlich, daß sich die von dem Gefäß versorgten Kapillaren nicht leerspülen können, wenn das Gefäß selbst nicht durchspült wird.

Auffallend bei den in den Versuchen gewonnenen Ergebnissen ist, daß bei den Cardiazolversuchen die Anzahl der Gehirne, die eine Pseudoanfärbung zeigen, bei zunehmendem Spüldruck im Vergleich zu anderen Versuchen stark abnimmt. So zeigen bei einem Spüldruck von 50 mm Hg (s. Tab. 6) fast 100% der Gehirne eine Pseudoanfärbung. Sie beträgt das Doppelte wie bei Kontrolltieren, erreicht fast das 5-fache der Theophyllintiere, und fällt bei einem Spüldruck von 150 mm Hg auf 0% ab. Dieses Ergebnis könnte vielleicht so gedeutet werden: Durch einen Cardiazolkrampf steigt der Gefäßtonus und die Gefäßdicke so stark an, daß dadurch eine Ödembildung zurückgedrängt wird, der Widerstand für eine Spülung jedoch stark erhöht ist.

Von einem bestimmten Druck an wird dieser Widerstand überwunden, sodaß sich die Gefäße, ohne durch ein Ödem verquollen zu sein, leer spülen können.

Die bei den Kontrolltieren fast horizontal verlaufende Kurve kann so gedeutet werden, daß eine gute Spülung durch die ödematöse Verquellung der Gefäße nicht möglich ist, und durch einen hohen Spüldruck nur leicht verbessert werden kann.

Die durch eine Theophyllinbehandlung erzielten guten Spülbedingungen können dadurch erklärt werden, daß Theophyllin eine ödematöse Verquellung der Gefäße verhindert, ohne wie Cardiazol den Gefäßtonus im Sinne einer spastischen Kontraktion zu erhöhen, sodaß auch schon bei einem Druck von 50 mm Hg gute Voraussetzungen für eine Spülung gegeben sind.

Die gefäßaktive Komponente der Theophyllinwirkung, die man als eine Spasmyse ansah, ist schon seit langem bekannt. Erst in der letzten Zeit ist durch die Arbeit von Mainzer 139) das Theophyllin und seine Derivate zur Behandlung angiospastischer Insulte in den Vordergrund getreten.

Koch und Schnellbächer 140) und Schnellbächer 141) befassen sich mit dem Einfluß des Theophyllin und seiner Derivate auf die Durchblutung des Gehirns. Dabei fanden sie, daß Theophylline — mit Ausnahme von Kgg 158, einem wasserlöslichen in 8-Stellung substituierten Theophyllin — keine ausgesprochene vasodilatorische Wirkung besitzen, die Gehirndurchblutung nicht beeinflussen oder leicht vermindern und den Blutdruck nicht oder wenig senken. Sie finden z. B. für das von Mainzer zur Therapie angiospastischer Insulte verwendete Theophyllin-Äthylendiamin (Euphyllin, Aminophyllin) eine verminderte Gehirndurchblutung und einen Blutdruckabfall von 10—20 mm Hg.

Schnellbächer 141) zeigte weiterhin, daß es bei der Therapie des Insultes nicht auf eine Gefäßerweiterung ankomme, da man diese am besten durch Zugabe von 5% CO₂ zur Atemluft oder durch Papaverin erzielen könne. (Nach CO₂-Gaben verdoppelte Gehirndurchblutung und starke Verminderung des Gefäßwiderstandes; bei Papaverin ist diese Wirkung nicht so stark).

Da man jedoch weder nach CO₂-Gaben noch nach Papaverin eine sofortige Besserung des Insultes, wie nach Euphyllingaben, sehen könnte, sei es unwahrscheinlich, daß der therapeutische Erfolg mit Aminophyllin durch eine Spasmyse bewirkt werde.

Schnellbächer nimmt an, daß die Erfolge bei der Behandlung des Insultes auf folgendem beruhen:

1. Auf einer analeptischen Komponente und der dadurch verbesserten Atmung und O₂-Versorgung.

2. Auf einer permeabilitätssteigernden Komponente, die einen besseren Stoffaustausch zwischen Blut und Gehirn ermöglicht.

3. Auf einer Mobilisation des im Gewebe deponierten Wassers und Chlors in die Blutbahn und dadurch eine Beseitigung der Ödeme und Entquellung der Gefäße.

Daraus ergibt sich, daß die entödematisierende Wirkung des Theophyllins, die sich als Diurese zeigt, wesentlich am Erfolg bei der Insultbehandlung beteiligt ist. Indem dadurch Gefäßödeme beseitigt werden, wird die Durchblutung relativ verbessert, eine natürliche Permeabilität, die durch die Verquellung aufgehoben war, wieder hergestellt und ein Stoffaustausch zwischen Blut und Gehirn verbessert oder gar erst ermöglicht. Dies betrifft zunächst noch erkrankte Gefäße. In eigenen Versuchen, die noch besprochen werden, zeigte sich, daß durch Theophyllin auch die Permeabilität am gesunden Gehirn gesteigert werden kann.

Eichhorn (138) schreibt in seiner Arbeit, daß 75% aller Insulte im ZNS durch Erweichungsherde und nicht durch Blutungen ausgelöst werden. Diese Erweichungsherde seien vorwiegend in den Versorgungsgrenzgebieten der Arterien zu finden.

Eich und Wiemers (81) fanden, daß eine auftretende Pseudoanfärbung an manchen Gehirnen vorwiegend dort zu sehen sei, wo sich eine Granularatrophie auf dem Boden einer Thrombendarteritis obliterans lokalisierte (Versorgungsgrenzgebiete).

Die Übereinstimmung all dieser Befunde dürfte dafür sprechen, daß sich eine Theophyllinwirkung auf die Spülung der Gehirngefäße in der dargelegten Weise vollzieht.

b. Ergebnisse anderer Autoren

Mit Ausnahme von Behnken (29), der einen Übertritt von Trypanblau in das ZNS neugeborener Tiere sah, stimmen die Ergebnisse der Autoren überein, daß sulfonierte Farbstoffe (Kongorot, Trypanblau, Geigyblau) unter physiologischen Bedingungen die BHS nicht überschreiten konnten.

Jedoch wurde eine Anfärbung des ZNS mit Trypanblau unter folgenden Versuchsbedingungen gesehen:

1. Läsionen im ZNS (4) (13) (21) (40) (90)
2. Peptonschock (92)
3. akute Enteritis (95)
4. Diathermie (56)
5. chronische Trypanblauinjektionen (21) (74)

Bei diesen Versuchen ist ein Gefäßschaden nachweisbar, sodaß es zum Plasma- und sogar zum Blutaustritt aus den Gefäßen kommt. Spatz (21) konnte nach chronischen Trypanblaugaben eine „Trypanblaueningitis“ nachweisen.

6. Monobromcampher (73) (74)
7. Coramin (73)
8. Novocain (74)

Die Versuchstiere von 7. und 8. erhielten an 8 Tagen täglich Injektionen von Trypanblau. Zusätzlich wurde mit dem entsprechenden Medikament ein Krampfanfall ausgelöst. Zum Teil handelt es sich schon um chronische Versuche. Eine Spülung der Gefäße wurde nicht erwähnt. Wahrscheinlich handelt es sich, ähn-

lich wie bei den Cardiazolversuchen, um eine Pseudoanfärbung. Prados y Such 73) schreibt selbst, daß bei schwacher Vergrößerung die Gefäße stark mit Farbe angefüllt erscheinen.

9. Urotropin 47)
10. Secale cornutum 99)
11. Alkoholvergiftung 47)
12. CO-Vergiftung 47) 93) 95) 98)
13. SH 2 - Vergiftung 98)
14. HCN-Vergiftung 98)
15. Natriumphosphat 74)
16. Osmon 74)
17. Hyper und hypotonische Zuckerlösung 52)
18. Thyreoidektomie 98)
19. Kastration 98)

Bei diesen Versuchen dürfte ein Gefäßschaden kaum anzunehmen sein. Die Versuche der Gruppen 11 und 12 wurden von anderen Autoren durchgeführt und nicht bestätigt 81) 100) 108). Die anderen Versuche können auf Grund von Fehlern in der Methode (wie z. B. fehlende Spülung) nicht bewertet werden. Ebenso ist es auf Grund bisheriger Ergebnisse nicht wahrscheinlich, daß es sich um einen echten BHS-Durchbruch handelt.

20. Gaben von hohen Trypanblaudosen

Morgenstern und Birjukoff 95) wollen nach einer Erhöhung der Trypanblaudosis von 0,25 mg/kg auf 0,4 mg/kg eine Anfärbung des ZNS gesehen haben. Diese Ergebnisse stehen aber im Widerspruch zu den Ergebnissen anderer Autoren, die ihre Versuche mit größeren Farbdosen durchgeführt haben.

Bei den Versuchen von Goldhammer und Marburg 74), die nach einer Erhöhung der Farbkonzentration eine Anfärbung der Gehirne gesehen haben, handelte es sich um chronische Versuche. Die Versuchstiere (Kaninchen) erhielten täglich 250 mg Trypanblau injiziert, bis sie starben.

Friedemann 57) fand, daß nach Erhöhung der injizierten Dosis alle Substanzen, für die eine BHS bestehe, in das ZNS gebracht werden könnten. Für Trypanblau fand er beim Meerschweinchen eine Schrankenschwellendosis von 134 mg/kg.

Gegen diesen Befund von Friedemann sprechen die Ergebnisse anderer Autoren, die bei höheren Dosen keine Anfärbung des ZNS sahen. Broman z. B. injizierte Versuchstieren bis zu 1000 mg/kg Trypanblau, ohne eine Anfärbung im ZNS zu sehen.

3. Die Faktoren, die der Funktion der BHS zugrunde gelegt wurden.

Bei der Erforschung des Stoffaustausches zwischen Blut und Gehirn wurde festgestellt, daß es Substanzen gibt, die unter physiologischen Bedingungen nicht in das ZNS übertreten, das heißt, für diese Substanzen besteht eine Blut-Hirnschranke.

Der Sitz dieser Schranke wurde im Laufe der Zeit in die verschiedensten morphologischen Substrate verlegt. Eine wesentliche und allgemein anerkannte Bedeutung für diese Schrankenwirkung besitzt das Endothel der Gefäße. Letztlich ist es doch auch die Funktion der Gefäße, das Blut von dem Gewebe zu trennen.

Dem Stoffaustausch zwischen Blut und Gehirn legten viele Autoren ganz allgemein Permeabilitätsvorgänge zugrunde.

Dabei versteht man unter Permeabilität das Übertreten einer Substanz aus einem Medium (B=Blut) durch eine trennende Schicht (M=Membran) in ein anderes Medium (H=Gehirn).

Bei Substanzen, für die zwischen Blut und Gehirn eine Schranke besteht, ist diese Permeabilität aufgehoben.

Im Folgenden sollen die einzelnen Faktoren genauer betrachtet werden, von denen angenommen wurde, daß sie das Permeabilitätsvermögen **sulfonierter lipoidunlöslicher Substanzen** aufheben.

1. geringer Dispersitätsgrad

In der Diskussion wurde gezeigt, daß die Permeabilität für sulfonierete Substanzen nicht durch deren geringen Dispersitätsgrad aufgehoben wird, da für basische Substanzen mit gleichem Dispersitätsgrad keine BHS besteht.

2. geringes Diffusionsvermögen

Das Diffusionsvermögen von Substanzen ist durch verschiedene Faktoren bedingt. So ist der Diffusionskoeffizient abhängig von dem Molekulargewicht u. dem elektrischen Verhalten (Elektrolyt, Nichtelektrolyt usw. 142)) der betreffenden Substanz. Das geringe Diffusionsvermögen von Geigy- und Trypanblau ist durch diese Faktoren zu erklären.

Das bedeutet jedoch nicht, daß eine BHS für sulfonierete Substanzen als eine Diffusionsschranke angesehen werden darf, denn auch diesen sulfonierten Substanzen mit nur geringem Diffusionsvermögen wäre durch die Verteilung der Kapillaren im Gehirn die Möglichkeit gegeben, in das gesamte ZNS hinein zu diffundieren.

3. Bindung sulfonierter Substanzen an das Serumalbumin

Schubert 133) fand ein Bindungsvermögen der Serumalbumine von 14 mg % für Geigyblau. In Bezug auf das gesamte Bindungsvermögen des Blutes dürfte dieser Wert zu niedrig liegen, da auch die Globuline, wenn auch nicht so stark wie Albumine, sulfonierete Farbstoffe binden.

Wenn man annimmt, daß das Blutvolumen einer Ratte 1/13 des Körpergewichtes beträgt, so besitzt eine 100 gr schwere Ratte ungefähr 7 cm³ Blut. In diese 7 cm³ Blut werden 10 mg Farbstoff injiziert (=100 mg/kg Körpergewicht). Das entspricht also einer Blutkonzentration von 143 mg %, das einem Vielfachen des von Schubert angegebenen Bindungsvermögens entspricht, ohne daß der Farbstoff in das Gehirn eindringen kann.

Das heißt, bis zu einer bestimmten Konzentration kann das Blut sulfonierete Substanzen binden. Da sich jedoch nach dem Überschreiten dieser Bindungsschwelle das ZNS nicht mit sulfonierten Farben anfärbt, kann eine Blut-Hirn-Schranke nicht allein durch das Bindungsvermögen der Serumalbumine für sulfonierete Substanzen verursacht werden. Dass sich bei einer Blutentnahme nach der Farbinjektion nur an Bluteiweiß gebundener Farbstoff findet, spricht nicht dagegen. Der die Bindungsschwelle überschreitende Farbstoff wandert in das Gewebe ab.

4. niedrige Konzentration sulfonierter Substanzen im Blut

Nach der Erhöhung der Konzentration des Neutralrot auf der Blutseite gelangt dieses vermehrt, wie noch gezeigt wird, in das ZNS.

Daraus ergibt sich, daß durch Erhöhung der Konzentration von Substanzen auf der Blutseite diese vermehrt in das ZNS gelangen können.

Letztlich ist bei einer Membrandiffusion die Höhe der Konzentration für die Diffusionsrichtung und bei bestehender Diffusionsschranke für die Größe des osmotischen Druckes verantwortlich.

Das heißt, eine Abhängigkeit des Diffusions- oder des Permeationsvermögens von der Konzentration besteht nur für Substanzen, die unter physiologischen Bedingungen in das ZNS eindringen. Für Substanzen, wie sulfonierete Farbstoffe, die nicht in das ZNS eindringen, besteht diese Abhängigkeit der Schranke von der Konzentration nicht. Dafür sprechen die Versuche mit sehr großen Farbstoffdosen, bei denen keine Anfärbung im ZNS gesehen wurde. Die Konzentrationshöhe könnte höchstens einen Einfluß auf den osmotischen Druck ausüben.

5. Donnan'sches Gleichgewicht

Obgleich sich der Stoffaustausch zwischen Blut und Gehirn zum Teil nach der Donnan'schen Regel vollziehen mag, so kann sie niemals die Ursache für eine BHS darstellen oder eine Erklärung dafür sein. Das Donnan'sche Gleichgewicht stellt eine empirisch gefundene Gesetzmäßigkeit dar, nach der sich auf beiden Seiten einer Membran durch Permeabilität ein Ionengleichgewicht einstellt; sie gilt also für permeierende Substanzen. Im Falle, daß für eine Substanz eine Impermeabilität besteht, kann sich kein Gleichgewichtszustand nach der Donnan'schen Regel ausbilden.

6. Fehlendes Adsorptionsvermögen und geringe Affinität des ZNS für sulfonierete Substanzen.

Es wurde gezeigt, daß das Blut nur bis zu einer bestimmten Menge sulfonierete Substanzen binden kann. Da sich jedoch nach der Fällung der Serumeiweiße im Blutserum kein gelöster sulfonierter Farbstoff befindet, muß der ungebundene Farbstoff in das Gewebe eingedrungen sein.

Da sich nicht der ganze Organismus mit diesem Farbstoff anfärbt (wie z. B. Gehirn und Fettgewebe), so muß nur ein Teil des Gewebes eine Affinität zu sulfonierten Substanzen haben.

Physiologisch gesehen ist diese Theorie vertretbar. Es ist nämlich zu erwarten, daß ein differenziertes Organ zum Aufbau nur seinem differenten Wesen entsprechend spezifische Substanzen elektiv aus einem indifferenten Medium aufnimmt. In Bezug auf das differenzierte Gewebe stellt Blut ein indifferentes Medium dar, das alle Substanzen jedem Gewebe anbietet.

In der BHS-Forschung wird meistens die Endothelmembran als Substrat der Schranke angesehen. Dabei weiß man jedoch noch nicht, ob es sich um eine siebartige Membran oder um eine Lipoidmembran handelt.

Wenn die Endothelmembran eine Lipoidmembran ist, dann darf das Adsorptionsproblem überhaupt nicht von dem Membranproblem getrennt werden, da nur solche Substanzen von einer Lipoidmembran durchgelassen werden, die in den Lipoiden, welche den spezifischen Charakter dieser Membran bedingen, löslich sind, das heißt, die adsorbiert werden können oder eine chemische oder physikalische Affinität zu dieser Membran besitzen.

Bei der Diskussion um die Narkosetheorien spielt die Endothelmembran keine Rolle, sondern nur die Lipoidmembran der Zelloberfläche. Zwar wird die Lipoidtheorie der Narkose, als narkosenauslösende Ursache nicht mehr anerkannt, sie hat jedoch als empirische gefundene Tatsache noch eine Bedeutung, da die Lipoidlöslichkeit der Narcotica noch eine Voraussetzung für ihre Wirksamkeit ist. Lipoidunlösliche Narcotica können nämlich überhaupt nicht in das ZNS eindringen.

Eine Schrankenwirkung muß, wenn sie einen Sinn haben soll, in Bezug zur spezifischen Funktion und zum chemischen Aufbau der Gewebe stehen.

Wenn also die BHS durch die Endothelmembran ausgelöst würde, dann müßte es sich um eine differente Membran handeln, da durch ihr Verhalten die differente Funktion und die chemische Zusammensetzung des Gehirngewebes bedingt sind. Diese Aufgabe kann jedoch von dem Gefäßendothel allein kaum ausgeübt werden, denn es müßte innerhalb der Gehirnsubstanz selbst noch weitgehend differenziert sein, und einen grundlegenden Unterschied in den Kapillaren der weißen und grauen Substanz und selbst innerhalb der grauen Substanz aufweisen. So dringt z. B. Neutralrot in die graue Substanz ein, nicht jedoch in die weiße.

Wahrscheinlich sind Gefäßendothel, Zelloberfläche, Gehirnsubstanz und andere Faktoren an dem BHS-Geschehen beteiligt und üben eine Wechselwirkung aufeinander aus.

7. H—Ionenkonzentration

Becker und Quadbeck 23) fanden ein vermindertes Übertreten von Substanzen aus dem Blut in das ZNS nach einer Säuerung auf der Blutseite. Das heißt, daß die H—Ionen die Permeabilität zwischen Blut und Gehirn vermindern. Nach Höber 142) besitzen Lipoidmembranen kein Lösungsvermögen für Ionen. Das heißt, sie sind für elektrisch geladene Teile nicht permeabel. Nun weisen neben der Narkosetheorie auch noch die Befunde anderer Autoren daraufhin, daß am Aufbau der BHS Lipoidmembranen wesentlich beteiligt sind.

Demzufolge kann die H—Ionenkonzentration nur dadurch einen Einfluß auf die Permeabilität ausüben, daß sie im Blut den Dissoziationsgrad der Substanzen ändert.

Durch das Zurückdrängen der Dissoziation bei einem bestimmten pH werden die Substanzen in einen elektrisch ungeladenen Zustand übergeführt, damit lipoidlöslich und können die BHS überschreiten. Ein umgekehrtes Verhalten wird durch eine Steigerung des Dissoziationsgrades erreicht.

Sulfonierte Farbstoffe sind jedoch stark dissoziiert und gute Elektrolyte, so daß eine im Blut infragekommende Änderung der H-Ionenkonzentration kaum einen Einfluß auf sie haben kann.

Anders verhält es sich für manche Substanzen, die schon unter physiologischen Bedingungen in das ZNS übertreten.

So ist zum Beispiel der Farbstoff Neutralrot im sauren Bereich nur zum Teil lipoidlöslich. Ein großer Teil der Farbe bleibt nämlich nach Ausschüttelung mit Benzol im Wasser zurück (Löslichkeit in Benzol als Modell für Lipoidlöslichkeit 23)).

In einem Phosphatpuffer mit einem pH von 7,38 gelöstes Neutralrot geht bei der Ausschüttelung vollkommen in Benzol über.

Dadurch ist es erklärlich, daß durch eine Säuerung auf der Blutseite die Lipoidlöslichkeit vermindert wird und weniger der betreffenden Substanz in das ZNS übertritt.

8. Schrankenabdichtende Wirkung von sulfonierten Substanzen.

Für Trypanblau wurde eine schrankenabdichtende Wirkung auf den Übertritt von Methylenblau in das ZNS nachgewiesen. Daraus folgerte man, daß sich Trypanblau selbst den Weg in das ZNS verlege 25).

Eine Verminderung der Permeabilität durch die sauren Eigenschaften des Trypanblau ist kaum anzunehmen. Zwar ist dieser Farbstoff eine schwach saure Substanz — sie erhält diese Eigenschaft durch abdissoziierende H-Ionen an den

beiden OH-Gruppen, denn die 4—SO₃- Gruppen sind durch Na⁺ abgesättigt —aber diese Eigenschaft dürfte durch die Pufferwirkung des Blutes kompensiert werden, zumal wenn Trypanblau selbst in einem Phosphatpuffer mit einem pH von 7,4 injiziert wird.

Der Farbstoff Methylenblau muß im Blut erst in die lipidlösliche Leukoform übergeführt werden, um in das ZNS gelangen zu können (23). Es ist deshalb anzunehmen, daß durch Trypanblau im Blut die Umwandlung von Methylenblau in die Leukoform zum Teil blockiert wird.

9. saure Eigenschaften der Substanzen

Ehrlich fand, daß basische Substanzen leicht, saure Substanzen und besonders Sulfosäuren nicht in das ZNS eindringen können.

Dieses empirisch gefundene Ergebnis hat sich im allgemeinen bis heute als richtig erwiesen und ist von den meisten Autoren anerkannt worden.

Es wurde erwähnt, daß die Lipidmembranen des ZNS für Ionen nicht permeabel sind. Voraussetzung für eine Säurewirkung von Substanzen ist jedoch, daß H-Ionen abdissoziieren und sie selbst als Anionen vorliegen. Damit ist zunächst erklärt, weshalb für saure Substanzen eine BHS besteht.

Dadurch wird der empirische Befund Ehrlichs bestätigt, daß nämlich vorwiegend saure Substanzen die beiden Kriterien für eine Schrankenwirkung erfüllen, die elektrische Ladung und die sich daraus ergebende Lipoidunlöslichkeit.

Dies gilt jedoch nicht für schwache Säuren, da diese in ihrem Verhalten nicht-elektrolyten ähneln, sodaß immer auch undissoziierte Moleküle vorliegen.

Dies darf jedoch nicht zu dem Trugschluß führen, Sulfosäuren seien schwache Säuren und müßten folglich die Möglichkeit haben, in das ZNS einzudringen.

Sulfosäuren selbst sind starke Säuren; nur liegen die meisten sulfonierten Farbstoffe als Neutralsalze vor (—SO₃- Na⁺), die als Salze einer starken Säure auch stark dissoziieren.

Ihre schwach sauren Eigenschaften erhalten sie durch abdissoziierende H-Ionen an anderen substituierten Gruppen, die wie beim Kongorot auch fehlen können.

Die Schrankenwirkung bei den sulfonierten Farbstoffen wird also weniger durch eine saure Eigenschaft sulfonierter Substanzen ausgelöst, sondern vielmehr durch die dissoziierenden — SO₃- Gruppen. Eine zusätzlich aber nicht notwendig vorhandene saure Eigenschaft kann demzufolge nur noch zusätzlich einen die Schrankenwirkung verstärkenden Effekt auslösen.

10 negative elektrische Ladung

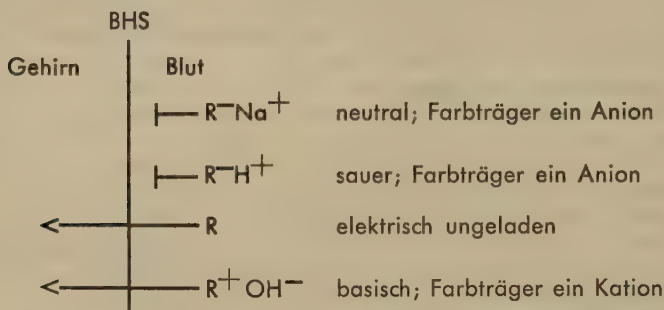
Friedemann (57) findet, wie schon berichtet, daß die Schrankenwirkung nicht von den sauren Eigenschaften der Stoffe abhängig ist, sondern durch eine negative elektrische Ladung bedingt wird.

Eine positive Ladung und das Fehlen einer negativen Ladung begünstigte, eine negative Ladung hindert eine Substanz in das ZNS einzudringen.

Dadurch, daß bei sauren Substanzen der Farbträger ein Anion ist, steht dieser empirische Befund im Einklang mit dem Ergebnis Ehrlichs, das noch erweitert wird, indem zu den Säuren noch die Neutralsalze hinzukommen, bei denen ebenfalls der Farbträger eine negative Ladung besitzt.

Es entspricht der Erfahrung, daß vorwiegend basische und elektrisch ungeladene Substanzen in das ZNS eindringen können. Hypothetisch wird die Aussage Friedemanns erst dadurch, daß er sich auf die Schranken erzeugende Wirkung der negativen Ladung festlegt und die von Ehrlich zusätzlich zu den

basischen Eigenschaften geforderte Lipoidlöslichkeit der Substanzen als Voraussetzung für ihr Eindringvermögen in das ZNS negiert. So fand Goldhammer und Marburg 74) eine BHS ebenso für das positiv geladene Nachtblau wie für das negativ geladene Kongoblau. Es wurde bereits gezeigt, daß die neueren



Skizze 8

Ergebnisse dafür sprechen, daß elektrisch geladene Substanzen eine Lipoidmembran nicht durchdringen können, die Mitwirkung einer solchen beim Stoffaustausch zwischen Blut und Gehirn jedoch angenommen werden muß. Daß auch basische Substanzen, die eine elektrische Ladung tragen, in das ZNS gelangen, ist dadurch zu erklären, daß diese Substanzen unter physiologischen Bedingungen sehr leicht in ungeladene Substanzen überführt werden können.

11. elektrische Ladung

Im Gegensatz zu Friedemann finden Becker und Quadbeck 25) eine BHS für Ionen basischer und saurer Farbstoffe. Das heißt, nur elektrisch ungeladene Substanzen können in das ZNS eindringen.

Dies dürfte mit den von Höber zusammengestellten Ergebnissen über allgemeine Permeabilitätsbedingungen übereinstimmen, die besagen, daß an Lipoidmembranen Nichtelektrolyte im allgemeinen ein gutes, Elektrolyte dagegen kein oder nur ein geringes Permeationsvermögen besitzen.

Diese Aussage bedarf jedoch noch einiger Einschränkungen. Es besteht nämlich auch eine Abhängigkeit des Permeationsvermögens von der Beschaffenheit der Lipoidmembranen. Durch Zusatz von Oleinsäure zu einem Olivenölmodell kann die Lipoidmembran an der Öl-Wassergrenze so verändert werden, daß eine relative Permeabilität für elektrisch geladene Substanzen erreicht werden kann.

Weiterhin wird die Schranken erzeugende Wirkung einer elektrischen Ladung durch den Befund eingeschränkt, daß auch für elektrisch ungeladene Substanzen eine BHS bestehen kann. So finden Becker und Quadbeck 23) für die ungeladene Leukoform des Laktofalvin eine BHS. Sie zeigen jedoch, daß das ungeladene Leukolaktoflavin im Gegensatz zum Leukomethylenblau nicht lipoidlöslich ist und fordern neben dem elektrisch ungeladenen Zustand einer Substanz für diese noch eine Lipoidlöslichkeit in den spezifischen Lipoiden des ZNS, um in das Gehirn eindringen zu können.

12. Lipoidunlöslichkeit

Bereits Ehrlich erwähnte, daß nur lipidlösliche Farbstoffe in das ZNS gelangen könnten. Dies wurde von Becker und Quadbeck bestätigt.

Daraus ergibt sich, daß die Lipoidlöslichkeit das integrierende Kriterium für das Vermögen einer Substanz in das ZNS einzudringen darstellt.

Da Ionen kaum in Lipoiden löslich sind, sind es in der Regel elektrisch ungeladene Substanzen, die in das ZNS einzudringen vermögen, oder solche, die vom Organismus in die ungeladene Form überführt werden können.

In Übereinstimmung mit den Befunden Ehrlich's sind dies vorwiegend basische Farbstoffe, die durch Überführen in ungeladene Leuko- oder Anhydrobasen lipoidlöslich werden.

Ebenso gibt es auch elektrisch ungeladene Substanzen, wie es Becker und Quadbeck für das Leukolaktoflavin nachwiesen, die nicht in das ZNS eindringen. Diese Substanzen sind jedoch nicht lipoidlöslich.

Höber selbst findet, daß es Substanzen gibt, die in Wasser gute Elektrolyte, aber auf Grund ihrer nichtpolaren lipophilen Gruppen mehr oder weniger in organischen Lösungsmitteln löslich seien.

So werden zum Beispiel durch Einführen von nichtpolaren Gruppen wie Halogene und Alkyle in eine Substanz deren Lipoidlöslichkeit und Permeationsfähigkeit durch Lipoidmembranen erhöht. Im umgekehrten Sinne wirkte das Einführen polarer Gruppen wie Hydroxyl, Amino u. Carboxyl.

Daß elektrisch geladene Substanzen, sofern sie lipoidlöslich sind, in das ZNS einzudringen vermögen, dürfte dem bisher Gezeigten nicht widersprechen.

Es kann sein, daß bei einem bestimmten pH die Dissoziation der substituierten Gruppen zurückgedrängt ist (Isoelektrischer Punkt), sodaß diese Substanzen lipoidlöslich werden. Für die BHS ist dies jedoch nur dann von Bedeutung, wenn der isoelektrische Punkt in der Nähe von einem pH liegt, der dem des Blutes entspricht.

Im folgenden sollen die in dieser Arbeit verwendeten Farbstoffe an dem von Becker und Quadbeck vorgeschlagenen Benzolmodell auf ihre Lipoidlöslichkeit geprüft werden.

Farbstoff	I NaHCO 3	II NaHSO 3	III pH 7,38	IV Olivenöl
Methylenblau	—	+	—	?
Neutralrot	+	+	+	+
Kongorot	—	—	—	—
Trypanblau	—	—	—	—
Geigyblau	—	—	—	—
Säurefuchsin	—	—	—	—

- I. Ausschüttelung mit Benzol aus einer wässrigen Bicarbonatlösung (NaHCO 3).
- II. Ausschüttelung aus einer wässrigen NaHSO 3-Lösung.
- III. Ausschüttelung aus einem Phosphatpuffer mit einem pH von 7,38
- IV. Ausschüttelung einer wässrigen Lösung mit Olivenöl.

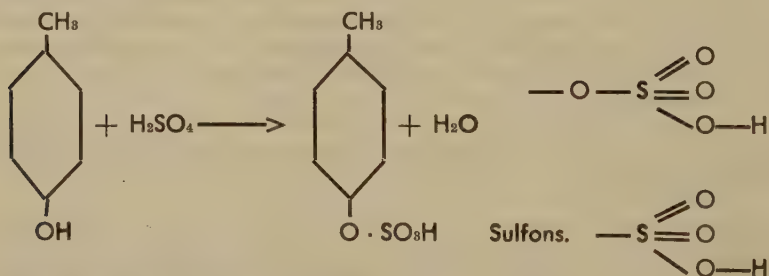
Tabelle 7

Dabei zeigt sich, daß die in der Tabelle 7 aufgeführten sulfonierten Substanzen (Kongorot, Trypanblau, Geigyblau, Säurefuchsin) nicht lipoidlöslich sind, noch durch NaHSO_3 in eine lipoidlösliche Form, wie dies beim Methylenblau der Fall ist, übergeführt werden können. Weiterhin ist zu bemerken, daß Substanzen nach Einführung von SO_3 Gruppen ausgesprochen wasserlöslich werden (143). Damit ist ein Verlust der Lipoidlöslichkeit verbunden. Außer durch SO_3 Gruppen kann eine Substanz auch durch Koppelung an andere Gruppen wasserlöslich werden, wie z.B. an Benzoate, Salzylate und Acetate wie beim Theophyllin und Coffein oder wie beim Evipan, das erst als Natriumsalz die gewünschte Wasserlöslichkeit besitzt.

Jedoch scheint im Gegensatz zu sulfonierten Substanzen diese Wasserlöslichkeit unter physiologischen Bedingungen aufhebbar zu sein, indem sie durch den Organismus in lipoidlöslichen umgewandelt werden oder primär die Wasserlöslichkeit so ist, daß neben der Wasserlöslichkeit noch eine lipophile Komponente vorhanden ist.

In Bezug auf die unaufhebbare Wasserlöslichkeit sulfonierter Substanzen kann man noch weiter gehen und sagen, daß es dem Prinzip des Organismus widerspricht, diese sulfonierten Substanzen in lipoidlösliche umzuwandeln. Eine BHS für sulfonierte Substanzen steht nämlich im Einklang mit dem Prinzip des Organismus, Stoffe durch Veresterung mit Schwefelsäure zu entgiften.

So werden zum Beispiel toxische Abbauprodukte wie die des Tyrosin und Tryptophan (Phenol, Kresol, Indol, Skatol) in der Leber durch Veresterung mit H_2SO_4 entgiftet.



Kresol und Schwefelsäure

Der Sinn dieses Entgiftungsprozesses ist doch wohl der, die toxische Wirkung körperfremder Substanzen dadurch zu verhindern, daß man ihnen die Möglichkeit nimmt an Orte zu gelangen, an denen sie ihre toxische Wirkung entfalten können.

Damit ist die BHS für sulfonierte Substanzen nicht nur ein Zufallsbefund, der durch das zufällige physicochemische-Verhalten sulfonierter Substanzen ausgelöst wird, sondern sie wird zu einem Teil ja sogar zur Voraussetzung für die Wirkung eines Entgiftungsprinzips des lebenden Organismus.

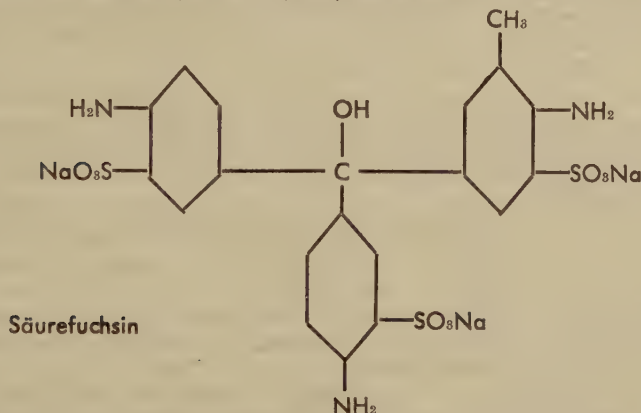
B. Versuche mit Säurefuchsin als Schrankenindikator.

Fröhlich und Zak (31—38) beschrieben in ihren Arbeiten ein Eindringen sulfonierter Substanzen in das ZNS nach einer Vorbehandlung mit Theophyllin. Als Indikator dienen Säurefuchsin, Tropäolin, Säuregrün und Phenolsulfophtalein, für die sie ohne Theophyllinvorbehandlung eine BHS fanden.

Auf Grund der bisherigen Ergebnisse muß jedoch angenommen werden, daß durch Theophyllin ein Schrankenbruch für sulfonierte Substanzen nicht erreicht werden kann. Eine durch $\text{SO}-3$ Gruppen bedingte BHS für eine Substanz kann durch eine gesteigerte Permeabilität nicht überwunden werden, sondern nur durch die Aufhebung der Wirkung der $\text{SO}-3$ Gruppen. Eine solche Wirkung ist jedoch weder von Theophyllin noch von Coffein und Cardiazol zu erwarten.

Um dies zu zeigen, wurden an 14 weißen Ratten, von denen 7 mit Theophyllin vorbehandelt wurden, Versuche mit Säurefuchsin unter den gleichen Versuchsbedingungen wie mit Geigyblau durchgeführt.

Säurefuchsin selbst ist ein lipoidunlöslicher, nicht kolloidaler sulfonierter Farbstoff aus der Gruppe der Triphenylmethane.



Er besitzt 3— $\text{SO}-3$ Gruppen, die als Natriumsalz vorliegen. Im sauren Bereich zeigt der Farbstoff eine rote Farbe, die im Basischen in braun übergeht.

Die von Fröhlich und Zak verwendete Farbdosis betrug 400 mg/kg Frosch in den Lymphsack.

In eigenen Versuchen wurden 600 mg/kg Ratte einer 5% wässrigen Säurefuchsinlösung intravenös injiziert. Eine toxische Wirkung konnte bei keinem Versuchstier beobachtet werden.

7 von diesen 14 Tieren wurden an 3 Tagen mit subcutanen Gaben von 154 mg/kg einer 5% wässrigen Lösung Theophyllinum natrio-aceticum vorbehandelt. Die Farbinjektion erfolgte 45 Minuten nach der letzten Theophyllininjektion. Nach weiteren 45 Minuten erfolgte die Spülung der Gehirngefäße in Urethannarkose mit einem Druck von 150 mm Hg wie beschrieben.

Nach der Präparation zeigten sich die Gehirne aller Tiere ungefärbt bis auf die Stellen physiologischer Anfärbung. Das spricht zugleich dafür, daß der Farbstoff nicht durch die Spülung aus dem Gehirn ausgewaschen worden ist, da angenommen werden kann, daß auch diese Stellen dann ungefärbt erschienen wären.

Dadurch ist weiterhin die Annahme einer BHS für sulfonierte Substanzen bestätigt worden, ebenso wie die Unmöglichkeit durch eine Erhöhung der Permeabilität diese Schranke zu durchbrechen, wie es für Säurefuchsin Greig und Mayberry 106) durch Physostigmin und Fröhlich und Zak durch Theophyllin beschrieben.

4. Versuche an der Blut-Hirn-Schranke mit nicht solfonierten, lipoidlöslichen Farbstoffen

A. Versuche mit Methylenblau als Indikator.

In den bisherigen Versuchen wurden bei der Prüfung einer Permeabilitätsänderung im ZNS durch Cardiazol, Coffein und Theophyllin sulfonierte Substanzen, für die unter physiologischen Bedingungen eine BHS besteht, als Indikatoren verwendet. Dabei stellte sich heraus, daß diese Substanzen für eine Prüfung der Permeabilität des ZNS als Indikatoren ungeeignet sind.

In den nun folgenden Versuchen sollen unter ähnlichen Versuchsbedingungen solche Substanzen als Indikatoren verwendet werden, für die keine BHS besteht, die also schon unter physiologischen Bedingungen in das ZNS eintreten.

Da diese Eigenschaft für Methylenblau schon von Ehrlich beschrieben und von allen Autoren bestätigt wurde, ja sogar die in das Gehirn eintretende Menge von Becker und Quadbeck quantitativ erfaßt wurde, sollen einige orientierende Vorversuche mit diesem Farbstoff durchgeführt werden.

Sechs Mäuse erhielten 100 mg/kg einer 1% wässrigen Methylenblaulösung intravenös injiziert. Einige Minuten nach der Injektion starben alle 6 Tiere an heftigen Krämpfen.

Zwei Mäuse wurden an 3 Tagen mit subcutanen Gaben von 154 mg/kg Theoph. natr. acetic. vorbehandelt. 45 Minuten nach der letzten Theophyllinjektion wurden intravenös 100 mg/kg Methylenblau verabreicht. Beide Tiere starben während der Injektion an Krämpfen.

Weiteren 8 Mäusen wurde die Hälfte der vorigen Methylenblaudosis (50 mg/kg) intravenös injiziert. Vier dieser Tiere waren an 3 Tagen, wie beschrieben mit Theophyllin vorbehandelt worden.

Bei allen 8 Tieren konnten heftige Krämpfe beobachtet werden. Von den 4 Tieren, die mit Theophyllin behandelt worden waren, starben 3 Tiere, während bei den nicht vorbehandelten Mäusen von 4 nur 1 Tier starb.

Daraus ergibt sich, daß durch eine Vorbehandlung mit Theophyllin und nachfolgenden Gaben von Methylenblau die Toxizität erhöht worden ist. Die Frage ob diese Verstärkung der Toxizität durch ein vermehrtes Eindringen von Methylenblau in das ZNS auf Grund der durch Theophyllin gesteigerten Permeabilität verursacht wurde, muß noch offen bleiben. Ähnliche Beobachtungen machten Fröhlich und Zak 31—38) mit Pikrotoxin, Cardiazol, Strychnin, Morphin, Mg-Salzen, Medinal und Urethan. Sie stellten fest, daß nach einer Vorbehandlung mit Theophyllin natr. acetic. eine unwirksame oder nicht tödliche Dosis zu einer wirksamen, bzw. tödlichen Dosis wurde. Interessant findet er, daß nach Gaben von Coffein und Theophyllin, die man mit Einschränkung zu den Analeptica rechnen kann, auch die schlafmachende Wirkung der Hypnotica verstärkt wurden.

Bei den Tieren, die an Krämpfen starben, wurde sofort postmortal und bei den 3 überlebenden Tieren 5 Min., 15 Min. und 60 Minuten nach der Farbinjektion eine Spülung der Gehirngefäße vorgenommen.

Die Gehirne aller Tiere zeigten eine grünlichblaue Farbe, die nach dem Einlegen in Carnoy'sche Lösung sofort in ein intensives Blau umschlug und nach 15—30 Minuten aus dem Gehirn in das Fixierungsmittel übergetreten war. Die Farbintensität der Gehirne war bei den beiden ersten Tieren (Spülung nach 5 und 15 Minuten) ungefähr gleich, zeigte jedoch bei dem 60 Minuten lebenden Tier einen starken Abfall.

Bereits nach 15 Minuten war der Harn bei diesem Tiere stark blau gefärbt, wogegen 45 Minuten nach einer Geigyblauinjektion der Harn nur einen leichten grünlichen Schimmer zeigte.

Dadurch, daß sich der Farbstoff, der sich im Gehirn befand, mit dem Fixierungsmittel extrahieren ließ, war die Möglichkeit gegeben, ihn quantitativ zu erfassen. Da Methylenblau, wie Becker und Quadbeck 23) zeigten, im Blut erst in eine Leukoform umgewandelt werden muß, um in das Gehirn zu gelangen, es sich also um eine indirekte Permeabilität handelt, wurde der Farbstoff Neutralrot, der diese Eigenschaft nicht besitzt und direkt in das Gehirn permeiert, dem Methylenblau vorgezogen. Damit ist nämlich bei der Prüfung der Permeabilität am ZNS ein Einfluß der Faktoren, die an der Umwandlung von Methylenblau in die permeable Leukoform beteiligt sind, ausgeschlossen.

Daß es sich aber bei den Versuchen mit Methylenblau um eine echte Anfärbung des Gehirns handelt, soll im nächsten Abschnitt gezeigt werden.

B. Quantitative Versuche mit Neutralrot als Indikator

Fragestellung: Mit Hilfe des Farbstoffes Neutralrot als Indikator soll untersucht werden, ob es möglich ist, durch die Stoffe Cardiazol, Coffein und Theophyllin eine Veränderung der Permeabilität des Zentralnervensystems zu bewirken. Dabei soll die Menge des im Gehirn nachweisbaren Indikators ein Maß für die Größe der Permeabilitätsänderung darstellen.

a. Methode

Die Versuchsanordnung ist ähnlich den Versuchen mit dem Farbstoff Geigyblau. Der Unterschied besteht darin, daß als Versuchstiere **Mäuse** mit einem Gewicht von 15—50 Gramm verwendet wurden und die Menge der Spülflüssigkeit nur 70 cm³ Ringerlösung betrug. Die Spülung wurde, wenn nicht besonders vermerkt, 15 Minuten nach der Farbinjektion in Urethannarkose bei einem Druck von 150 mm Hg durchgeführt (Urethannarkose 5 Minuten vor Spülbeginn). Tiere, die mit Coffein und Theophyllin vorbehandelt wurden, erhielten den Farbstoff 45 Minuten nach der letzten Injektion intravenös verabreicht. (Coffeindosis = 250 mg/kg Coff. natr. benz. 5 % wässrige Lösung s. c. an 3 Tagen; Theophyllindosis: 154 mg/kg Theoph. natr. acetic. 5 % wässrige Lösung s. c. an 3 Tagen). Cardiazol wurde 1 Minute vor der Farbinjektion in einer Dosis von 10 mg/kg einer 0,5% wässrigen Lösung i. v. injiziert.

Nach der Präparation wurden die Gehirne gewogen, in 5 cm³ Carnoy'sche Lösung eingelegt und mit einem Glasstab zerquetscht.

Eine Stunde später wurde das rotgefärbte Extraktionsmittel abfiltriert, der Rückstand mit weiteren 5 cm³ Carnoy'scher Lösung, mit denen der Filter nachgewaschen wurde, übergossen und erneut mit einem Glasstab zerrieben. Nach einer weiteren Stunde wird das Extraktionsmittel erneut abfiltriert. Der Filterrückstand muß jetzt vollkommen weiß erscheinen. Das Filtrat wurde zu dem schon gewonnenen hinzugegeben, auf genau 10 cm³ mit Carnoy'scher Lösung aufgefüllt u. nach 2 Std. die Farbmenge colorimetrisch bestimmt. Dafür wurde das Elektrophotometer „Elko II“ von Zeiß benutzt. Die Messung erfolgte mit dem Filter S 53 52 in einer 1 cm Küvette gegen Wasser.

Abgelesen wurde auf der Eichkurve einer Vergleichslösung von Neutralrot in Carnoy'scher Lösung in einem Bereich von 0,01 — 1 mg %.

Als Indikator diente der Farbstoff Neutralrot. Mit Aqua dest. wurde eine 1% Lösung hergestellt, im Wasserbad auf 50° C erhitzt, filtriert und im Kühlschrank dunkel (!) aufbewahrt. Die recht lichtempfindliche Farblösung wurde alle 8 Ta-

ge erneuert. Die injizierten Farbdosen betrugen in den Versuchen 50 mg/kg = 50 Gamma/1 Gramm Körpergewicht.

Als Beispiel sei hier ein Versuchsprotokoll wieder gegeben.

Protokoll 163

21. 5. 1958

Maus = 25 Gramm

9.00 h 0,125 cm³ Neutralrot 1% i. v. (= 50 mg/kg)

9.10 h 0,25 cm³ Urethan 20% i. p.

9.15 h Spülung mit 70 cm³ Ringerlösung mit einem Druck von 150 mm Hg

Gewicht des Gehirns = 390 mg

9.30 h 1. Farbextraktion mit 5 cm³ Carnoy'scher Lösung

10.30 h 2. Farbextraktion mit 5 cm³ Carnoy'scher Lösung bis 11.30 h

13.30 h Colorimetrische Bestimmung der Farbmenge in 10 cm³ Extraktionsflüssigkeit.

Ablesung: Elko II = 0,1690

Eichkurve = 0,16 mg %

Farbmenge in 10 cm³ = 16 Gamma

16 Gamma in 390 mg Gehirn = 41 Gamma Neutralrot/1 Gramm Gehirn.

b. Versuche mit weißen Mäusen in 4 Gruppen zu 12 Tieren mit Cardiazol, Coffein und Theophyllin

In einigen Vorversuchen wurde der Farbstoff Neutralrot auf seine toxische Wirkung geprüft.

Zahl der Tiere	Neutralrot mg/kg	vorbehandelt mit:	Dosis mg/kg	A	K	†
3 Mäuse	200	—	—	—	3	3
6 "	100	—	—	—	2	1
6 "	100	Coff.	100	s. c.	6	6
10 "	100	Theoph.	100	s. c.	7	4
5 Ratten	100	—	—	—	5	5
14 Mäuse	50	—	—	—	1	—
13 "	50	Coff.	100	s. c.	13	1
12 "	50	Theoph.	100	s. c.	4	—
2 "	50	Cardiaz.	20	i. v.	2	2
13 "	50	Cardiaz.	10	i. v.	3	—

A = Applikationsart

K = Krämpfe

† = Tod des Versuchstieres

Tabelle 8

Für Mäuse betrug die absolut tödliche Dosis Neutralrot 200 mg/kg i. v., für Ratten 100 mg/kg i. v., die von Mäusen noch relativ gut vertragen wurde. Die Versuche konnten jedoch nicht mit einer Dosis von 100 mg/kg Neutralrot durchgeführt werden, da alle mit Coffein und ungefähr die Hälfte der mit Theophyllin vorbehandelten Tiere daran starben.

Auch bei der Versuchsdosis von 50 mg/kg Neutralrot konnte eine Zunahme der toxischen Wirkung nach Coffein- und Theophyllinvorbehandlung sowie nach Cardiazolgaben beobachtet werden. Dabei nahm die Stärke der toxischen Wirkung mit der Wirksamkeit dieser Substanzen als Analeptica zu, also in der Reihenfolge Theophyllin, Coffein, Cardiazol.

Ohne Neutralrotgaben wurden bei den injizierten Coffein-, Theophyllin- und Cardiazoldosen keine Krämpfe gesehen. Interessant ist es, daß in diesen Versuchen die übliche Dosis von 0,05 cm³ Urethan 20% pro 10 g Maus verdoppelt werden mußte, um bei den Cardiazol-, Coffein- und Theophyllintieren eine Narkose zu erzeugen. Um einheitliche und vergleichbare Versuchsbedingungen zu haben, erhielten die Kontrolltiere die gleiche Urethanmenge, obgleich es nicht nötig gewesen wäre.

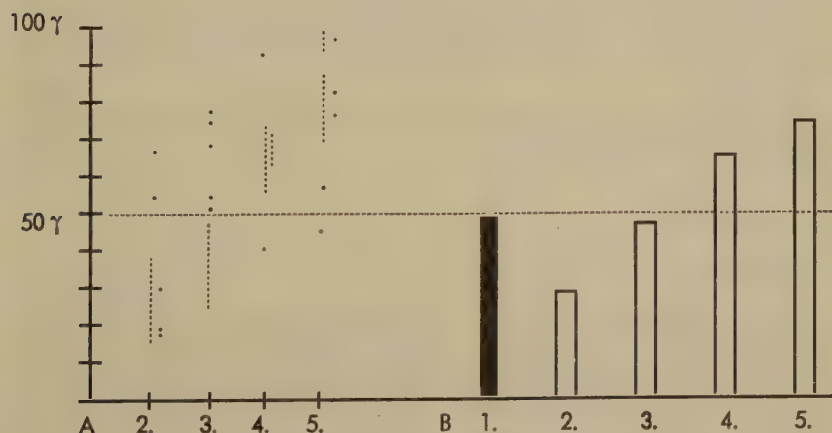
Die von Fröhlich und Zak beschriebene Narkose verstärkende Wirkung von Coffein und Theophyllin konnte in diesen Versuchen nicht bestätigt werden.

Das Durchschnittsgewicht der 48 Mäuse, die in den Versuch kamen, betrug 26 g, das der Gehirne 425 mg $\pm$ 50 mg.

Die injizierte Farbmenge betrug 50 Gamma pro 1 g Körpergewicht. Bei gleicher Verteilung des Farbstoffes im Körper konnten ungefähr 21 Gamma Farbe in einem Gehirn von 425 mg erwartet werden. Dies scheint zunächst auch den gefundenen Werten bei den Kontrolltieren mit 20 Gamma / pro 425 mg Gehirn zu entsprechen.

Die in den Versuchen gefundene durchschnittliche Farbmenge umgerechnet auf Gamma Farbe pro 1 g Gehirn betrug:

1. Injizierte Farbmenge	= 50 Gamma / 1 gr	= 100 %
2. Cardiazoltiere	= 29 Gamma / 1 gr Gehirn	= 58 %
3. Kontrolltiere	= 48 Gamma / 1 gr Gehirn	= 96 %
4. Theophyllintiere	= 64 Gamma / 1 gr Gehirn	= 130 %
5. Coffeintiere	= 77 Gamma / 1 gr Gehirn	= 154 %



Abszisse = 8 Neutralrot pro 1 Gramm Gehirn
A = Einzelwerte B = Mittelwerte

Tabelle 9

Daraus ergibt sich zunächst, daß nach einer Vorbehandlung mit Coffein und Theophyllin im Vergleich zur Norm der Farbstoff Neutralrot vermehrt in das Gehirn permeiert. Dagegen ist nach Cardiazol die in das Gehirn eintretende Farbmenge stark verringert.

Auffallend ist, daß die bei den Kontrolltieren im Gehirn gefundene Farbmenge von 48 Gamma fast der pro Gramm injizierte Farbmenge von 50 Gamma entspricht. Man ist geneigt anzunehmen, der Farbstoff habe sich gleichmäßig auf den ganzen Körper verteilt. Die fehlende Farbmenge von nur 2 Gamma, ließe sich durch die schnelle Ausscheidung des Farbstoffes im Harn erklären.

Im Gegensatz zu Tieren, die eine gleiche Geigyblauemenge injiziert bekamen, färbte sich nach Neutralrotgaben die sichtbare Haut und Schleimhaut nur leicht rot an.

Nach Übergießen der einzelnen Gewebsarten mit Carnoy'scher Lösung röten sich diese, mit Ausnahme des Fettgewebes. Die Farbintensität der Gehirne änderte sich nach dem Einlegen in Carnoy'sche Lösung nicht. Die Gehirne zeigten nach wie vor eine kirschrote Farbe, an der man sogar makroskopisch Intensitätsunterschiede feststellen kann (Vergl. Abb. 2).

Durch verschiedene Ebenen der Gehirne wurden Schnitte gelegt. An den Schnittflächen sah man, daß sich die graue Substanz stark rot gefärbt hatte, während die weiße Substanz keinen Farbstoff aufnahm und sich auch nicht nach dem Einlegen in Carnoy'sche Lösung anfärbte.

Es ist ein eindrucksvolles Bild, die Kontraste zwischen der rotgefärbten grauen Substanz und der ungefärbten weißen Substanz zu sehen, wobei eine ganz klare Trennungslinie zwischen den Farbqualitäten rot-weiß besteht.

Trotz dieser scharfen Farbgrenzen kann die angefärbte Substanz von der ungefärbten technisch nicht exakt getrennt werden, sodaß also der im Gesamthirn gefundene Farbstoff von 48 Gamma pro 1 gr Gehirn nicht in diesem einen Gramm enthalten ist, sondern in 1 Gramm Gehirn minus dem Gewichtsanteil der weißen Substanz. Folglich muß in 1 Gramm gefärbter Substanz mehr Farbstoff enthalten sein, als es einer gleichen Verteilung des injizierten Farbstoffes entspricht.

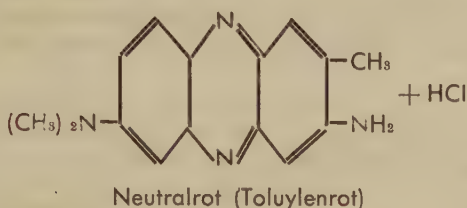
Das heißt also, daß die graue Substanz des Nervengewebes eine ausgesprochene Affinität zu dem Farbstoff Neutralrot besitzt, während für die weiße Substanz eine Schranke besteht.

C. Diskussion

1. Der Farbstoff

Als erster beschrieb Ehrlich eine Anfärbung des Gehirns mit Neutralrot beim Kaninchen. Dieser Befund wurde später von Friedemann, Becker und Quadbeck bestätigt. Nur Blum (104) sah nach einer Injektion von Neutralrot ungefärbte Gehirne. Er tötete jedoch die Versuchstiere erst 5 Tage nach der letzten Farbinjektion. In einem eigenen Vorversuch erhielten 2 Mäuse 50 mg/kg Neutralrot. Je ein Tier wurde 24 und 48 Stunden nach der Farbinjektion getötet. Dabei konnte festgestellt werden, daß die Gehirne der Tiere wieder ungefärbt waren. Selbst bei einem 60 Minuten nach der Farbinjektion getöteten Tier, zeigt das Gehirn im Vergleich zu einem nach 5 Minuten getöteten Tier einen deutlichen Intensitätsverlust.

Der Farbstoff Neutralrot oder Toluylenrot ist ein 3-Amino-dimehylphenazin-hydrochlorid.



Es wurden Lösungsversuche mit Neutralrot in einem Phosphatpuffer bei steigenden Stufen von einem pH 4,5 bis pH 8,3 durchgeführt. Dabei zeigte sich, daß bei gleichen Farbstoffen die Stabilität der Lösung mit steigendem pH abnimmt. Während bei einem pH von 4,5 die Farblösung sehr stabil ist, fällt bereits bei einem pH von 6,9 ein Teil und bei einem pH von 8,3 der gesamte Farbstoff aus. Das heißt, daß der Farbstoff Neutralrot bei einem pH von 6,9 einen Teil seiner Wasserlöslichkeit verliert. Auf Grund dieser Ergebnisse ist zu vermuten, daß in dem Maß, in dem der Farbstoff seine Wasserlöslichkeit verliert, seine Lipoidlöslichkeit zunimmt und damit auch seine Fähigkeit, in das Gehirn einzudringen. In schon beschriebenen Versuchen wurde gezeigt, daß sich bei einem pH von 7,38 Neutralrot vollkommen aus einer wässrigen Lösung mit Benzol ausschütteln läßt. Dies gelingt nicht aus einer stark sauren Lösung.

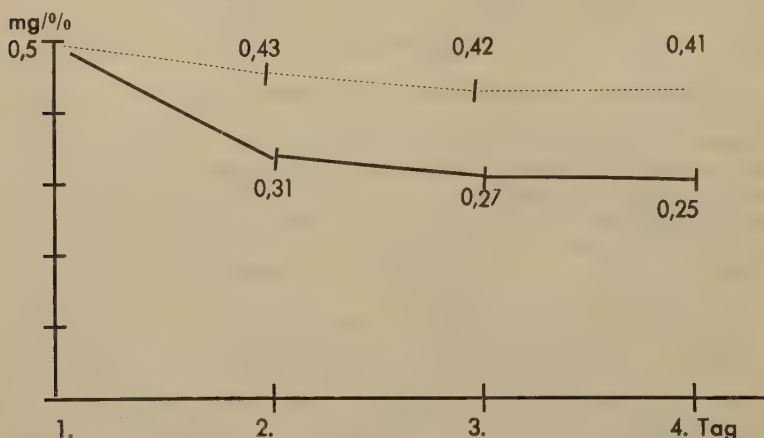
Das heißt, daß bei einem pH des Blutes von 7,34 die elektrische Ladung von Neutralrot soweit aufgehoben ist, daß der Farbstoff lipoidlöslich wird und direkt in das ZNS eindringen kann. Er muß also nicht erst wie das Methylenblau im Blut in die lipoidlösliche Leukoform übergeführt werden, um in das ZNS eintreten zu können. Es kann angenommen werden, daß deshalb Neutralrot direkt Permeabilitätsänderungen am Gehirn anzeigt, und Faktoren die bei der Umwandlung von Methylenblau eine Rolle spielen, hier unbeachtet bleiben können.

Weiterhin wurden Neutralrotlösungen mit folgenden Lösungsmitteln hergestellt: Chloroform, Methanol, Äthanol, Isopropylalkohol, Aqua dest., Formaldehyd, Carnoy'sche Lösung. Nur in der Carnoy'schen Lösung zeigte der Farbstoff Neutralrot nach 4 Tagen denselben bläulich-roten Farbton und fast die gleiche Intensität. Bei den anderen Lösungsmitteln war die Farbe verblaßt oder in gelb umgeschlagen. Nach Zusatz von Essigsäure erhielten die Lösungen zwar wieder eine rote Farbe, jedoch war die Qualität und Intensität der Farbe stark verändert.

Extraktionsversuche an gefärbten Gehirnen zeigten, daß sich Carnoy'sche Lösung am besten dazu eignete. Mit Aqua dest. konnte der Farbstoff nicht extrahiert werden. Nur nach starkem Homogenisieren der Gehirne war ein ganz geringer Teil der Farbe in Wasser übergetreten.

Ein anderer Vorteil der Carnoy'schen Lösung ist durch deren pH von 4,4 gegeben, da er außerhalb des Bereiches liegt, in dem geringe pH Unterschiede eine Farbänderung von Neutralrot hervorrufen können (pH 6,8 — 8,0; unter pH 6,8 bläulich-rot — oberhalb pH 8 gelb), sodaß eine exakte colorimetrische Bestimmung möglich war.

Jedoch wurde auch in Carnoy'scher Lösung ein Intensitätsverlust der Farblösung festgestellt, wobei eine Abhängigkeit von der Lichtintensität bestand. So war der Farbunterschied zwischen zwei 4 Tage alten Lösungen, von denen eine im Dunkeln stand, die andere dem Sonnenlicht ausgesetzt wurde, größer als derjenige zwischen einer frischen und einer 4 Tage alten Lösung, die im Dunkeln standen.



Abfall einer 0,5 % Neutralrotlösung in Carnoy'scher Lösung. (Gemessen mit Elko II Gerät).

----- Farblösung im Dunkeln aufbewahrt.
 ————— Farblösung dem Sonnenlicht ausgesetzt.

Tabelle 10

Die Extraktionen wurden deshalb im Dunkeln durchgeführt. Der Konzentrationsabfall im Dunkeln während der ersten 4 Stunden beträgt ungefähr 0,01% und ist so gering, daß er bei den Ergebnissen nicht berücksichtigt zu werden braucht.

2. Die Ergebnisse

Nachdem in den ersten Versuchen mit Geigyblau als Indikator gezeigt wurde, zu welchen Fehlschlüssen eine sorglose Betrachtung einer im Gehirn auftretenden Färbung führen kann, drängt sich hier die Frage auf, ob es sich bei den Versuchen mit Methylenblau und Neutralrot um eine echte Anfärbung des ZNS handelt.

Daß es sich in den Neutralrotversuchen, und das gleiche gilt für den Farbstoff Methylenblau, um eine echte Anfärbung des ZNS handelt, ergibt sich aus einem Vergleich mit Gehirnen, die in den Geigyblauversuchen eine Pseudoanfärbung zeigten:

1. Im Gegensatz zu den Versuchen mit Geigyblau färbten sich alle Gehirne ohne Ausnahme, mit Neutralrot an.

2. Diese Anfärbung ist regelmäßig über der ganzen Cortex ausgebreitet. Sie zeigt nicht das fleckige unregelmäßige Bild einer Pseudoanfärbung (vergl. Abb. 1 und 2).

3. Eine regelmäßig auftretende und homogene Anfärbung konnte in den Versuchen mit Geigyblau nur an den Stellen physiologischer Anfärbung gesehen werden.

4. Die Anfärbung des ZNS mit Neutralrot erstreckte sich streng auf die graue Substanz und trennte sie optisch scharf von der weißen Substanz. Dies dürfte nicht der Fall sein, wenn es sich um eine Pseudoanfärbung handelt, die durch ungespülte Gefäße hervorgerufen wird, da es nicht einzusehen ist, weshalb sie sich nur in der grauen Substanz lokalisiere.

5. Mit Neutralrot färbten sich stets auch die tiefen Kerngebiete an, dies konnte in keinem Geigyblauversuch gesehen werden.

6. Im Gegensatz zu Geigyblau ist Neutralrot bei einem pH von 7,3 lipidlöslich, sodaß schon von vornherein eine echte Anfärbung des ZNS erwartet werden konnte.

Es kann deshalb als sicher angenommen werden, daß es sich bei den Versuchen mit Methylenblau und Neutralrot um eine echte Anfärbung des ZNS handelt. In wie weit zusätzlich noch Pseudoanfärbungen auftreten, die durch die echte Anfärbung des ZNS überdeckt werden, ist nicht feststellbar. Diese Frage ist jedoch von Bedeutung, wenn es sich um quantitative Versuche handelt. Es wurde nämlich gezeigt, daß eine Pseudoanfärbung durch ungespülte Kapillaren hervorgerufen wird. Dieser in den Gefäßen lagernde Farbstoff wird bei der quantitativen Bestimmung der Farbmenge, die in die Gehirnsubstanz eingedrungen ist, miterfaßt und kann die Ergebnisse fälschen.

Es ist jedoch unwahrscheinlich, daß in den Versuchen mit Neutralrot die im Gehirn gefundenen Farbwerte durch eine verdeckte Pseudoanfärbung so gefälscht werden, daß eine Beurteilung der Ergebnisse nicht mehr möglich ist. Die Spülung der Gehirngefäße wurde nämlich durchweg bei einem Druck von 150 mm Hg durchgeführt. Die Versuche mit Geigyblau zeigten, daß bei diesem Druck das Auftreten einer Pseudoanfärbung auf ein Minimum reduziert ist und nach einer Behandlung der Versuchstiere mit Cardizol und Theophillin vollkommen verhindert wird. Eine Korrektur der Ergebnisse könnte höchstens bei den Kontrolltieren und bei dem Coffeinversuch nötig sein. Nun findet sich in den Gehirnen der Kontrolltiere fast 50% mehr Farbstoff als in den Gehirnen der Tiere die Cardiazol erhielten. Ein durch eine Pseudoanfärbung erhöhter Farbwert kann jedoch kaum 50 % der gesamten im Gehirn nachgewiesenen Farbmenge ausmachen, sodaß also im Cardiazolversuch sicherlich weniger Farbstoff in die Gehirne gelangt ist als im Kontrollversuch. Das gleiche kann für den Coffeinversuch angenommen werden.

An verschiedenen Stellen in dieser Arbeit wurde schon darauf hingewiesen, daß sich der Farbstoff Neutralrot nicht mit Wasser aus den Gehirnen extrahieren läßt, sodaß auch dem Einwand, bei der Spülung sei schon ein Teil des Farbstoffes aus den Gehirnen ausgewaschen worden, begegnet werden kann.

Es ist logisch, daß unter physiologischen Bedingungen mit einem erhöhten Gehirnzellstoffwechsel ein erhöhter Stoffaustausch zwischen Blut und ZNS einhergeht. Mit einer Erhöhung des Stoffaustausches zwischen Blut und Gehirn ist jedoch notwendig eine gesteigerte Permeabilität des ZNS verbunden.

Gewisse Hinweise waren gegeben, daß nach Cardiazolgaben der Gehirnstoffwechsel und damit auch die Permeabilität des ZNS gesteigert werde. So nahm zum Beispiel die toxische Wirkung des Neutralrot mit der Stärke der analeptischen Wirkung zu.

Eichhorn 88) fand einen erhöhten Übertritt von ^{32}P in das Gehirn nach Cardiazolgaben. Um so überraschender war es, nach Gaben von Cardiazol eine deutliche Abnahme des Stoffaustausches zwischen Blut und Gehirn für den Farbstoff Neutralrot zu sehen. Ob diese verminderte Permeabilität des ZNS nur für Neutralrot besteht oder auch andere Substanzen betrifft, kann natürlich nicht gesagt werden, ist aber durchaus möglich. Die von Eichhorn gefundene erhöhte Permeabilität des ZNS nach Cardiazolgaben, darf jedoch nicht mit diesen Versuchen verglichen werden, da Phosphat wahrscheinlich überhaupt nicht direkt in das ZNS eindringen kann. Bei der Besprechung der Versuche mit Theophyllin wird darauf noch einmal näher eingegangen werden.

Eine Erklärung dieser verminderten Permeabilität nach Cardiazolgaben ist durch bisherige Befunde noch nicht möglich. Vielleicht wird durch eine Abdichtung der Gefäße nach Cardiazolgaben der Stoffaustausch vermindert. Hinweise sind durch die Versuche mit Geigyblau gegeben. Ebenso gut kann man vermuten, daß Cardiazol eine elektrische Entladung der Ganglienzellen auslöst, im Sinne einer Membrandepolarisation, ohne den Stoffwechsel der Zelle anzuregen, wobei in der nachfolgenden Erschöpfungsphase der Stoffaustausch vermindert ist.

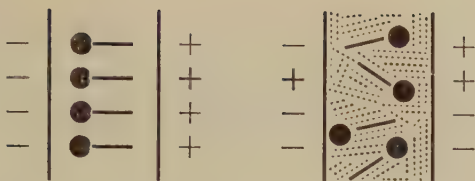
Zu dem im Kontrollversuch erhaltenen Ergebnis wurde bereits Stellung genommen. Es ergab sich, daß das Gehirn im Vergleich zum übrigen Körpergewebe eine ausgesprochene Affinität zu dem Farbstoff Neutralrot besitzt und mehr Farbstoff aufnimmt, als es einer gleichen Verteilung der injizierten Farbmenge über den ganzen Körper entspricht.

Eine Abhängigkeit der in das Gehirn permeierenden Neutralrotmenge von der Konzentration im Blut wurde schon erwähnt. Während bei der Neutralrot-dosis von 50 mg/kg im Durchschnitt 48 Gamma Farbe in 1 g Gehirn gefunden wurden, lag der Durchschnitt von 5 Versuchen in denen den Versuchstieren 100 mg/kg Neutralrot injiziert wurden bei 90 Gamma pro 1 g Gehirn.

In den Versuchen mit Theophyllin scheint das vermehrte Eindringen von Neutralrot in das ZNS auf einer echten und allgemeinen Permeabilitätssteigerung des Gehirns zu beruhen. Dabei dürfte die Theophyllinwirkung vorwiegend an den cerebralen Gefäßen angreifen.

Diese Gefäßwirkung des Theophyllin darf jedoch, wie Schnellbächer 141) zeigt und wie auch in den Theophyllinversuchen mit Geigyblau vorgetragen, nicht als eine reine Spasmyse mit einem Angriffspunkt des Theophyllin an der glatten Muskulatur der Gefäße angesehen werden. Vielmehr darf angenommen werden, daß Theophyllin und seine Derivate durch eine Beseitigung der Gefäßödeme und der Ödeme in der Umgebung der Gefäße wirkt.

Über die Wirkung des Theophyllin kann man sich folgendes Bild machen: Die BHS besteht aus einer Membran, die Lipoideigenschaften besitzt, gleich wo man sie lokalisiert, und für lipoidunlösliche Substanzen nicht durchgängig ist. Die Lipide dieser Membran scheinen einen Dipolcharakter zu besitzen. Diese Dipole werden durch unterschiedliche elektrische Ladungen auf beiden Seiten der Membran ausgerichtet.



Je stärker diese Dipole ausgerichtet sind, um so größer ist die Permeabilität.

Ein O₂-Mangel führt zu einem Spannungsabfall und hebt die Dipolanordnung auf. Dadurch kann sich H₂O in diese Membran einlagern und den Stoffaustausch, d.h. die Permeabilität vermindern oder aufheben, sodaß es schließlich zu einem Versagen dieser Membran kommt. Dieser Vorgang stellt im eigentlichen Sinne den BHS-Durchbruch dar. Es braucht nicht besonders betont werden, daß ein solcher BHS-Durchbruch ein höchst unphysiologischer Vorgang ist. Er ist identisch mit dem "klin. Begriff des akuten Versagens der BHHS", da es zu einem Gefäßschaden kommt, der zu Ödembildungen, zu einem Plasmaaustritt oder gar zu Blutungen führt wie bei der Gehirnpurpura.

In diesem Zustand gleicht die BHS einem Schwamm, dessen Substanz aufgequollen ist. Seine Poren sind geschlossen und er kann seine Funktion, Wasser aufzunehmen, nicht erfüllen. Man darf sich die Wirkung des Theophyllin so vorstellen, als dränge sie diese Membranödem zurück, sodaß wieder ein geregelter Stoffaustausch möglich wird. In diesem Zusammenhang sei nochmals auf die gewebesentwässernde und diuretische Wirkung des Theophyllin hingewiesen.

Auf diese Theophyllinwirkung führt Schnellbächer auch die Erfolge, der von Mainzer eingeführten Therapie des apoplektischen Insultes mit Euphyllin zurück. In der Regel liegt einem solchen Insult eine Gefäßsklerose zugrunde. Diese Sklerose verläuft in Schüben, denen jeweils ein Intimaödem vorausgeht (Büchner Lehrbuch d. Pathol.), das zu einer Hypoxydase des ZNS führt.

Das gleiche kann bei der Therapie des Herzinfarktes mit Theophyllin gesagt werden.

So liegt nach Ansicht von Kahlau 145) dem Herzinfarkt, abgesehen von einer Embolie oder Thrombose, nur selten ein Coronarspasmus zugrunde, sondern meistens eine Coronarsklerose, die, sei es durch einen sklerotischen Schub oder durch eine relative Sauerstoffsuffizienz, ein Ödem der Gefäße auslöst.

Man weiß heute, daß eine Commotio cerebri zu einem allgemeinen Gehirn-ödem führt, in das natürlich auch die Gefäße 109), und zwar vorwiegend die Versorgungsgrenzgebiete der Arterien mit einbezogen sind. Dem entsprechen diejenigen Gehirnbezirke, an denen in den Geigyblauversuchen die Theophyllinwirkung das Auftreten einer Pseudoanfarbung verhindert.

Vielleicht würde auch eine Untersuchung der therapeutischen Wirkung des Theophyllin beim Asthma bronchiale in diese Richtung weisen; schließlich kommt es bei diesem Krankheitsbild zu einem allergischen Ödem der Bronchien.

Es sei noch auf die Therapie des Kreislaufkollapses und Schocks mit Peripherin (50 mg 1-Ephedrin und 200 mg Oxyäthyltheophyllin) hingewiesen. Der Sinn einer **spasmolytischen** Wirkung des Theophyllins ist doch bei diesem Krankheitsbild nicht einzusehen und als Analepticum dürfte es kaum das Geeignete sein. Vielmehr erwartet man von der Therapie des Kreislaufschocks eine Wiederherstellung der physiologischen Gefäßpermeabilität.

Eine Steigerung der Permeabilität des ZNS nach Theophyllingaben (Cordalin) wird von Eichhorn 138) negiert. Diese Versuche können jedoch nicht ohne weiteres mit den Neutralrotversuchen verglichen werden. Er tötete die Versuchstiere (5 Kaninchen) durch entbluten, ohne eine Spülung der Gehirngefäße durchzuführen. Durch die Versuche mit Geigyblau ist es fraglich geworden, ob eine Beurteilung quantitativer Versuche ohne Spülung der Gefäße überhaupt möglich ist.

Wesentlich für diese unterschiedlichen Versuchsergebnisse dürfte auch der Unterschied der verwendeten Indikatoren Neutralrot und Radiophosphor sein. Neutralrot ist eine lipoidlösliche Substanz, die direkt in das ZNS eindringt. Diese Eigenschaften besitzt jedoch das Phosphat nicht. Als freies anorganisches Ion dürfte Phosphor kaum lipoidlöslich sein und die BHS nicht oder nur in ganz geringen Mengen durchdringen können. Um als eine lipoidlösliche organische Phosphorverbindung in das Gehirn eindringen zu können, sind im Organismus Umwandlungsprozesse nötig. Dadurch wird Phosphor ungeeignet als Indikator für die Permeabilität.

Ebenso interessant sind die hohen Neutralrotwerte, die nach einer Coffeinvorbehandlung in den Gehirnen der Versuchstiere gefunden wurden. Sie liegen um rund 50% höher als in den Kontrollen.

Im Folgenden sollen diese Ergebnisse im Zusammenhang mit einigen therapeutischen Möglichkeiten des Coffeins betrachtet werden, die sich zunächst zu widersprechen scheinen. So soll das Coffein folgende Wirkungen besitzen:

1. eine narkotische Wirkung
2. eine analeptische Wirkung
3. eine zentral ausgelöste tachykarde Wirkung
4. eine vagal ausgelöste bradykarde Wirkung
5. eine Verstärkung der Wirkung der Analgetica
6. eine narkoseverstärkende Wirkung
7. eine antikonvulsive Wirkung
8. eine spasmolytische Wirkung
9. eine diuretische Wirkung
10. eine allgemeine Erhöhung des Stoffwechsels
(= Steigerung der Permeabilität).

In dieser Arbeit wurde bereits auf das Janusgesicht des Coffein hingewiesen. So gibt Taubmann 146) als Faustregel an, daß beim Menschen Coffein bis zu einer Dosis von 50 mg einen vagal akzentuierten, dämpfenden und über 100 mg einen sympatischen, anregenden Effekt auslöst, wobei die Konstitution und die psychische Ausgangslage der betreffenden Person zu berücksichtigen sind. So kann zum Beispiel bei einem Nachmittagskaffee durch den Genuß einer Tasse Bohnenkaffee eine schläfrige Stimmung so verstärkt werden, daß man kaum mehr das Gähnen unterdrücken kann, während die gleiche Coffeindosis vor einer Prüfung genommen einen Tremor auslöst.

Für diese bilaterale Coffeinwirkung sprechen die am Herzen gefundenen Ergebnisse. Hier kann Coffein sowohl eine tachykarde als auch eine bradykarde Wirkung ausüben.

Es ist bekannt, daß durch einen Coffeinzusatz die schmerzstillende Wirkung der Analgetica verstärkt wird 144). Wenn man dieser Betrachtung die für Coffein mit Neutralrot gewonnenen Ergebnisse zugrunde legt, dann ist eine verstärkte analgetische Wirkung so zu verstehen, daß durch Coffein die Permeabilität des ZNS gesteigert wird. Dadurch ist es den analgetisch wirkenden

Substanzen möglich, vermehrt in das ZNS einzudringen und dort entsprechend ihrer erhöhten Konzentration eine verstärkte schmerzstillende Wirkung zu entfalten. Es besteht ja auch ohne Coffeinzusatz eine Abhängigkeit des analgetischen Effektes von der Größe der verabreichten Dosis. Da sämtliche Analgetica gut lipoidlösliche Substanzen sind, ist zu erwarten, daß sie direkt, entsprechend der Größe der Permeabilität in das ZNS gelangen können.

Auch eine verstärkte schlafmachende Wirkung der Narcotica nach Gaben von Coffein, haben Fröhlich und Zak bereits beschrieben. Dies scheint zunächst ein Widerspruch zu sein. Man benutzt ein Analepticum, um eine Narkose zu vertiefen. Solange es sich um Coffeindosen unter 50 mg handelt, ist dies noch zu verstehen, da Coffein in dieser Dosierung sedierend wirken kann. Wie verhält es sich jedoch bei hohen Coffeindosen?

Coffein ist im Vergleich mit Pikrotoxin, Cardiazol und Coramin kein allzu starkes Analepticum. Deshalb wird bei einer hohen Dosierung eines starken Schlafmittels die analeptische Wirkung des Coffein nicht ausreichen um die Narkose zu unterbrechen. Folglich kann sich nur die permeabilitätssteigernde Wirkung des Coffein, die dem Cardiazol fehlt, bemerkbar machen, sodaß vermehrt Narcotica in das ZNS gelangen und die Schlafwirkung vertiefen.

Dagegen dürften hohe Coffeindosen bei einem schwachen Narcoticum eine sichere analeptische Wirkung entfalten. In den beschriebenen Neutralrotversuchen reichte eine narkotisch wirkende Urethandosis von 1 gr/kg i. p. nicht aus, wenn die Versuchstiere an 3 Tagen mit je 100 mg/kg Coffein s. c. vorbehandelt wurden. Erst nachdem die Urethandosis verdoppelt wurde, fielen auch diese Tiere in eine tiefe Narkose.

Eichholtz und Veigel 144) fanden für Coffein eine antikonvulsive Wirkung. Sie weisen darauf hin, daß in der Behandlung der Epilepsie Luminal oder Pro-minal mit Coffein kombiniert verabreicht werden, um eine verstärkte antikonvulsive Wirkung zu erreichen. Diese Substanzen gehören jedoch der Gruppe der Hypnotica an. Für sie dürfte das Besprochene gelten.

In Versuchen an weißen Ratten fanden sie auch eine Erhöhung der Krampfschwelle für Cardiazol und Coramin nach vorherigen Coffeingaben (Krampfdosis für Coramin 65 mg/kg, nach Coffeingaben 155 mg/kg). Dabei nehmen sie für Coffein eine echte antagonistische antikonvulsive Wirkung an. Diese Befunde können durch eine gesteigerte Permeabilität nach Coffeingaben nicht erklärt werden.

Die gleiche antikonvulsive Wirkung haben sie auch für Theophyllin nachgewiesen.

Eichholtz nimmt an, daß die antikonvulsive Eigenschaft der Purinkörper mit deren spasmolytischer Wirkung zusammenhänge. Für Theophyllin ist diese Frage bereits diskutiert worden. Auch bei der Beurteilung einer spasmolytischen Wirkung des Coffeins auf die cerebralen Gefäße muß man sehr vorsichtig sein. Einen Hinweis dafür gibt das Verhalten der Gehirngefäße bei den Versuchen mit Geigyblau, in denen die Versuchstiere mit Coffein vorbehandelt wurden. Das häufige Auftreten einer Pseudoanfärbung in diesen Versuchen spricht durchaus nicht für eine spasmolytische Coffeinwirkung. Die guten Erfolge bei der Behandlung der Migräne durch Analgetica in Verbindung mit Coffein müssen nicht unbedingt auf einer zusätzlichen spasmolytischen Coffeinwirkung beruhen, sondern können auch so interpretiert werden, daß Coffein lediglich die spasmolytische Wirkung der Analgetica verstärkt. Auch an die Beseitigung einer Hypoxydase des ZNS durch eine Permeabilitätssteigerung kann bei dieser Therapie gedacht werden.

Offen bleibt die Frage, wie sich die in den Versuchen gewonnenen unterschiedlichen Versuchsergebnisse für Coffein und Theophyllin erklären. Bei beiden Purinabkömmlingen ist eine rein spasmolytische Wirkung noch nicht erwiesen und kaum anzunehmen.

Aus einem allgemeinen Vergleich der Coffein- und Theophyllinwirkung ergibt sich, daß Coffein eine stärkere analeptische und Theophyllin eine stärkere diuretische Wirkung besitzt.

Wenn man die in der Praxis angewandte Theophyllintherapie betrachtet, fällt auf, daß sie fast nur bei Krankheiten angewandt wird, bei denen Gefäßstörungen im Vordergrund stehen. Gleichzeitig können bei diesen Erkrankungen Gefäßödeme angenommen werden. Es ist bezeichnend, daß man bei dieser Therapie das Theophyllin dem Coffein vorzieht. Eine Erklärung, dies geschehe „um die lästige analeptische Wirkung des Coffein auszuschließen“, reicht nicht aus. Es ist vielmehr so, daß die Praxis dem Theophyllin deshalb den Vorzug gibt, weil man bessere therapeutische Erfolge damit erzielt. Für eine bessere Gefäßwirkung des Theophyllin sprechen eindeutig die Ergebnisse der Geigyblauversuche.

Aus dem bisher Diskutierten bietet sich direkt die Erklärung an, daß dies mit der stärkeren gewebsewässernden und diuretischen Wirkung des Theophyllin zusammenhänge.

Im Vordergrund der Coffeinwirkung steht die analeptische, zentralerregende und leistungssteigernde Eigenschaft. Diese Steigerung des Gehirnstoffwechsels wird automatisch eine Steigerung des Stoffaustausches zwischen Blut und Gehirn nachfolgen, sofern die Gefäße nicht pathologisch verändert sind. Es ist durchaus denkbar, daß die erhöhte Permeabilität für Neutralrot im ZNS durch diese zentrale Erregung des Coffein hervorgerufen wird, während sich die permeabilitätssteigernde Wirkung des Theophyllin mehr an erkrankten und pathologisch veränderten Gefäßen bemerkbar macht, indem es die Voraussetzungen für einen Stoffaustausch schafft.

Bemerkenswert sind die hohen Neutralrotwerte im Gehirn nach einer Coffeinbehandlung im Vergleich mit den niederen Werten im Cardiazolversuch. Als Erklärung bleibt nur die Möglichkeit, daß die analeptische Wirkung des Cardiazol auf einem anderen Wirkprinzip beruht als die des Coffein. Einige Hinweise dafür sind gegeben.

So ist zunächst die unterschiedliche Wirkdauer dieser Substanzen auffallend. Während beim Cardiazol die Wirkung schnell einsetzt und ebenso schnell wieder abklingt, setzt die Coffeinwirkung langsam ein, hält über Stunden an und klingt langsam wieder ab.

Cardiazol ist eine sehr gut wasserlösliche Substanz, Coffein dagegen löst sich wenig in Wasser, ist aber dafür sehr gut lipoidlöslich (10 Teile Cardiazol lösen sich in 4 Teilen Wasser; ungefähr 1 Teil Coffein löst sich in 100 Teilen Wasser).

Man könnte sich vorstellen, daß Coffein den Stoffwechsel der Ganglienzellen so steigert, daß es zu elektrischen Entladungen und Krämpfen kommt, während Cardiazol mehr an der Zelloberfläche angreift, dort elektrische Impulse auslöst, ohne auf den Zellstoffwechsel selbst direkt einzuwirken.

Es sei zum Schluß noch vermerkt, daß diese in der Diskussion vorgetragenen Zusammenhänge nur zu einem Teil experimentell belegt, zu einem anderen Teil hypothetisch sind. Sie lassen jedoch eine einheitliche und wahrscheinliche Erklärung über die Wirkung des Coffein und des Theophyllins zu und besitzen zumindest als Arbeitshypothese ihren Wert.

Schlußwort

In Beantwortung der Fragestellung dieser Arbeit, welche Wirkung Coffein, Theophyllin und Cardiazol auf die Blut-Hirnschranke und die Permeabilität des Zentralnervensystems haben, kann abschließend gesagt werden; daß sie die für sulfonierte Substanzen bestehende BHS nicht aufheben können, wohl aber die Permeabilität der BHS so verändern, daß Stoffe, die unter physiologischen Bedingungen die BHS in einer bestimmten Menge durchdringen, vermehrt oder vermindert in das ZNS gelangen.

In Übereinstimmung mit anderen Autoren wurde gezeigt, daß für lipoidunlösliche Substanzen oder solche, die im Organismus nicht in lipoidlösliche umgewandelt werden können, eine Blut-Hirnschranke besteht.

Diese Blut-Hirnschranke ist unter physiologischen Bedingungen unaufhebbar. Sie kann auch nicht durch Coffein, Theophyllin und Cardiazol aufgehoben werden. Nur pathologische Prozesse können sie zerstören.

Voraussetzung für die Fähigkeit einer Substanz, in das Gehirn zu permeieren, ist also deren Lipoidlöslichkeit. Dies kann jedoch nicht absolut genommen werden, da die Lipoidlöslichkeit selbst ein relativer Begriff ist. So dringt zum Beispiel der gut wasserlösliche Phosphorsäureester „Phospholin“ nicht in das Gehirn ein, obgleich er ein **wenig** lipoidlöslich ist. Auf dieses Problem soll jedoch nicht näher eingegangen werden, da der in dieser Arbeit gebrauchte Begriff der Lipoidlöslichkeit, den an ihn gestellten Anforderungen gerecht wird. Allerdings wäre es interessant zu wissen, in wie weit die unter physiologischen Bedingungen in das Gehirn eindringende Menge verschiedener Substanzen von dem Grad ihrer Lipoidlöslichkeit abhängig ist.

Die Wirkung von Coffein, Theophyllin und Cardiazol auf die Permeabilität des Zentralnervensystems wurde mit Hilfe des lipoidlöslichen Farbstoffes Neutralrot untersucht, wobei die Menge des in das ZNS permeierten Farbstoffes als Maß für die Permeabilitätsänderungen diente. Dabei konnte festgestellt werden, daß Cardiazol die Permeabilität des ZNS herabgesetzt, während Coffein und Theophyllin diese Permeabilität steigern, und zwar Coffein mehr als Theophyllin.

Diese Coffeinwirkung beruht wahrscheinlich auf einer Stoffwechselsteigerung des ZNS, die sich symptomatisch als eine analeptische Wirkung zeigt. Der Stoffwechselsteigerung des Gehirns folgt natürlich eine Steigerung des Stoffaustausches, d. h. der Permeabilität des ZNS.

Entsprechend seiner geringeren analeptischen Wirkung steigert Theophyllin die Permeabilität des ZNS nicht im gleichen Umfang wie Coffein. Im Vordergrund der Theophyllinwirkung steht die Entwässerung der Gewebe. Und zwar scheint der Angriffspunkt dieser Wirkung an den Lipoidmembranen des ZNS zu liegen.

Überraschend waren die Befunde, daß es nach Cardiazolgaben zu einer Verminderung der Permeabilität des ZNS kam. Auf Grund der analeptischen Cardiazolwirkung konnte eher das Gegenteil angenommen werden. Eine Erklärung dieses Befundes ist nicht möglich. Es kann nur vermutet werden, daß Cardiazol zwar eine starke analeptische Wirkung entfaltet, aber den Stoffwechsel und damit auch die Permeabilität des ZNS nicht erhöht.

Zum Schluß möchte ich all denen recht herzlichen Dank sagen, die mir bei der Durchführung dieser Arbeit behilflich waren. Mein besonderer Dank gilt jedoch meinem Lehrer und Doktorvater, Herrn Prof. Dr. med. Gert Taubmann.

Literaturverzeichnis

1. Ehrlich P. „Das Sauerstoffbedürfnis der Organismen“. Berlin 1885
2. Ehrlich P. Therap. Monatshefte 1 (1887) 38
3. Lewandowsky E. Zschr. f. kli. Medizin 40 (1900) 480
4. Curdy G. T. M. Berl. klin. Wschr. 36 (1912) 1695
Evans H. M.
5. Goldmann E. E. Abh. preuß. Akad. d. Wissensch. 1913
6. Ahrens H. Zschr. f. Neurol. 15 (1913) 578
7. Rachmanow A. Fol. neurobiol. 7 (1913) 750
8. Woolsey W. C. J. of Nervous Disease 42 (1915) 477
9. Zand N. Paris Masson et Cie 1930
Ref. Zentralbl. f. Neurol. 64 (1932) 61
Schw. Arch. f. Neurol. 8 (1921) 233
Arch. f. intern. physiol. 17 (1922) 391
10. Monakow C.
11. Stern L. S. Klin. Wschr. 24 (1925) 1297
Gautier R.
12. Hauptmann A. Zschr. f. Biol. 86 (1927) 115
13. Gärtner W. Zschr. f. Neurol. 140 (1932) 572
14. Hauptmann A. Gärtner W.
15. Gärtner W. Zit. n. Spatz H. Arch. f. Psychiatr. 101 (1934) 267
Held H.
16. Held H. Mschr. f. Neurol. u. Psychiatr. 26 (1909) 360
17. Walter F. K. „Die Blut-Liquorschanke“
Leipzig Georg Thieme-Verl. 1929
18. Walter F. K. „Die Blut-Hirnschanke“.
Zschr. f. Neurol. 128 (1930)
19. Walter F. K. Arch. f. Psychiatr. 101 (1934) 195
20. Kafka V. Arch. f. Psychiatr. 101 (1934) 231
21. Spatz H. Arch. f. Psychiatr. 101 (1934) 267
22. Eich J. Dtsch. Zschr. f. Nervenheilk. 164 (1950) 537
Wiemers K.
23. Becker H. Zschr. f. Naturforschg. 7b (1952) 493
Quadbeck G.
24. Nießing K. Dtsch. Zschr. f. Nervenheilk. 168 (1952) 485
25. Quadbeck G. Dtsch. med. Wschr. 34 (1957) 1377
Helmchen H.
26. Morgenstern S. Zschr. f. Neurol. 113 (1928) 640
Birjukoff M.
27. Krebs H. A. Zschr. f. exp. Medizin 49 (1926) 553
Wittgenstein A.
28. Heilig R. Klin. Wschr. 2 (1924) 2049
Hoff H.
29. Behnßen G. Münch. med. Wschr. 28 (1926) 1143
30. Fröhlich A. Wiener klin. Wschr. 45 (1928) 1545
31. Fröhlich A. Wiener klin. Wschr. 48 (1925) 2303
Zak E.

32. Zak E. Wiener klin. Wschr. 48 (1925) 2305
33. Zak E. Wiener klin. Wschr. 18 (1926) 493
34. Fröhlich A.
Zak E. Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm.
121 (1927) 108
35. Zak E. Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm.
143 (1929) 310
36. Fröhlich A. Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm.
166 (1932) 85
37. Fröhlich A.
Zak E. Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm.
177 (1935) 103
38. Zak E. Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm.
177 (1935) 113
39. Handowsky
Uhlenbruch Zit. n. Fröhlich u. Zak
Wiener klin. Wschr. 18 (1926) 493
40. Mendel W. Zschr. f. Neurol. 117 (1928) 148
41. Henning N. Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm.
166 (1932) 42
42. Hoff H. Wiener klin. Wschr. 45 (1928) 1551
Silberstein F.
43. Loewi O. Wiener klin. Wschr. 46 (1927) 2169
44. Hoff H. Jhrb. f. Psychiatr. 46 (1929) 209
45. Stern L. L. Soc. Biol. 97 (1927) 453
Kremlew L.
46. Stern L. Cr. Soc. Biol. 97 (1927) 644
Romel E.
Slatowierow A. O.
47. Stern L. Cr. Soc. Biol. 97 (1927) 647
Lokchina E.
48. Stern L. Cr. Soc. Biol. 99 (1928)
Belkina L. G. Ref. Zbl. f. Neurol. 52 (1929) 69
Slatowierow A. O.
49. Stern L. Cr. Soc. Biol. 99 (1928) 536
Belkina L. G. Ref. Zbl. f. Neurol. 51 (1929)
Slatowierow A. O.
50. Stern L. Cr. Soc. Biol. 99 (1928) 538
Kassil N. G. Ref. Zbl. f. Neurol. 51 (1929) 752
Lokchina E.
51. Stern L. Cr. Soc. Biol. 99 (1928) 360
Kassil N. G. Ref. Zbl. f. Neurol. 51 (1929) 552
Lokchina E.
Romel E.
52. Stern L. Cr. Soc. Biol. 99 (1928) 365
Zeitlin S. Ref. Zbl. f. Neurol. 51 (1929) 751
Gazmann R.
53. Lokchina E. Med. Biol. Z. (ruß.) 5 (1929) 119
Ref. Zbl. f. Neurol. 54 (1930) 810
54. Zeitlin S. Med. Biol. Z. (ruß.) 5 (1929) 92
Ref. Zbl. f. Neurol. 54 (1930) 470

55. Zeitlin S.
Gazmann R. Med. Biol. Z. (ruß.) 5 (1929) 99
Ref. Zbl. f. Neurol. 54 (1930) 469
56. Schmid H. Arch. f. Psychiatr. 95 (1931) 303
57. Friedemann U. J. of Immunology 32 (1937) 97
58. Friedemann U.
Elkeles A. Zschr. f. exp. Medizin 74 (1930) 293
59. Elkeles A. Zschr. f. exp. Medizin 80 (1931) 212
60. Friedemann U.
Elkeles A. Dtsch. med. Wschr. 46 (1931) 1934
61. Elkeles A. Dtsch. med. Wschr. 24 (1932) 923
62. Elkeles A. Klin. Wschr. 2 (1932) 2027
63. Broman T. Scand. Arch. Physiol. 80 (1938) 59
Ref. Zbl. f. Neurol. 93 (1939) 314
64. Broman T. Acta psychol. 16 (1941) 1
Ref. Zbl. f. Neurol. 101 (1942) 488
65. Broman T. Acta psychiatr. 30 (1955) 115
Ref. Zbl. f. Neurol. 134 (1955) 335
66. Broman T. Arch. f. Psychiatr. 112 (1941) 290
67. Broman T. Arch. f. Psychiatr. 112 (1941) 309
68. Spiegel E. A. Revue neur. 64 (1935) 469
Spiegel A. M.
69. Spiegel A. M. Am. J. of Psychiatr. 92 (1936) 1145
70. Rein H. Einführung in die Physiologie des Menschen.
Springer-Verl. 1955 S. 347
71. Fürst K. Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm.
105 (1925) 238
72. Campailla G. Riv. Pat. nerv. 55 (1940) 225
Ref. Zbl. f. Neurol. 100 (1940) 485
73. Prados y Such Arch. f. Psychiatr. 105 (1936) 17
74. Goldhammer H. Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm.
Marburg O. 189 (1938) 164
75. Bauer K. Fr. Arch. f. Psychiatr. 193 (1955) 68
Leonhardt H.
76. Leonhardt H. Medizin. Klinik 44 (1949) 1162
77. Bauer K. Fr. Arch. f. Psychiatr. 195 (1956) 199
Haase J.
Leonhardt H.
78. Leonhardt H. Ärztl. Forschg. 7 (1957) 352
79. Pentschew A. Arch. f. Psychiatr. 185 (1950) 345
80. Albert E. Chemie u. Stoffwechsel des Nervengewebes.
Springer-Verl. 1952 S. 129
81. Eich J. Dtsch. Zschr. f. Nervenhlk.
164 (1950) 537
82. Wiemers K. Zschr. f. exp. Med. 115 (1949/50) 688
Wiemers K.
Maurer W.
Niklas A.
83. Stern W. E. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.
Marshall C. 78 (1951) 16
84. Koch E. Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm.
Bohn H. 220 (1953) 157
HeiB F.
Schneider R.

85. Kelentei B. Acta physiol. 8 (1955) 165
86. Eichhorn O. Arch. f. Psychiatr. 188 (1952) 274
87. Eichhorn O. Wiener klin. Wschr. 22 (1954) 388
88. Eichhorn O. Wiener klin. Wschr. 12 (1956) 237
89. Weichbrodt R. Arch. f. Psychiatr. 61 (1920) 160
90. Macklin C. C. Arch. of Neurol. 3 (1920) 353
Macklin M. T.
91. Gennerich W. Zbl. f. Neurol. 35 (1924) 94
92. Siengalewicz S. J. of Pharmacol. 24 (1924) 301
Clark A. J.
93. Clark A. J. J. of Pharmacol. 24 (1924) 289
94. Abel Zit. n. Fröhlich u. Zak
Wiener klin. Wschr. 18 (1926) 493
95. Morgenstern S. Zschr. f. Neurol. 106 (1926) 743
Birjukoff M.
96. Mandelstamm M. Zschr. f. exp. Medizin 58 (1927) 256
Krylow L.
97. Krylow L. Zschr. f. exp. Medizin 60 (1928) 63
98. Stern L. Cr. Soc. Biol. 97 (1927) 466
Rapoport J. L.
Kremlew L. Ref. Zbl. f. Neurol. 50 (1928) 324
99. Pentschew A. Arch. f. Psychiatr. 185 (1950) 345
100. Grinsteyn A. Gig. pat. Truda (ruß.) 7 (1929) 15
Popova N. Ref. Zbl. Neurol. 55 (1929) 262
101. Tschetschujewa T. Zschr. f. exp. Medizin 69 (1929) 208
102. Schuster J. Zit. n. Spatz
Arch. f. Psychiatr. 101 (1934) 267
103. Schützuy A. Zit. n. Spatz
Arch. f. Psychiatr. 101 (1934) 267
104. Blum G. Zit. n. Spatz
Arch. f. Psychiatr. 101 (1934) 267
105. Felici M. Riv. Pat. nerv. 58 (1941) 112
Ref. Zbl. f. Neurol. 102 (1942) 75
106. Greig M. E. J. of Pharmacol. a. exp. Therap. 1 (1951) 102
Mayberry Th. C.
107. Aird R. B. J. of Neurosurg. 9 (1952) 331
Strait L. S.
Zea Lear D.
Hrenoff M.
108. Becker H. Zschr. f. Naturforschg. 7b (1952) 498
Quadbeck G.
109. Gerlach J. Zschr. f. Naturforschg. 8b (1953) 578
Becker H.
110. Quadbeck G. Zschr. f. Naturforschg. 8b (1953) 370
Randerath K.
111. Randerath K. Zschr. f. Naturforschg. 10b (1955) 168
112. Quadbeck G. Zschr. f. Naturforschg. 10b (1955) 328
Helmchen H.
113. Hallervorden J. Dtsch. med. Wschr. 4 (1957) 129
Quadbeck G.
114. Winterstein H. Acta physiol. Latinoamericano 3 (1953) 194

115. Winterstein H. Zit. n. Quadbeck u. Helmchen
Zschr. f. Naturforschg. 10b (1955) 328
116. Heß A. Zit. n. Quadbeck u. Helmchen
Dtsch. med. Wschr. 34 (1957) 1377
117. Rein H. Einführung in die Physiologie des Menschen
Schneider M. (Springer-Verlag 1955 S. 143)
118. Clemente C. D. Arch. Neurol. Psychiatr. 71 (1954) 66
Holst E. A.
119. Hurst E. W. Brit. J. Pharmacol. Chemotherap.
Davies O. L. 5 (1950) 147
120. Manery J. F. Physiol. Rev. 34 (1954) 334
121. Wallace G. B. J. Pharmacol. Exper. Therap.
Brodie B. B. 70 (1940) 418
122. Bakay L. The Blood-Brain Barrier
(Springfield Ill 1956)
123. Kamin H. J. Biol. Chem. 188 (1951) 193
Handler P.
124. Klein J. R. J. Biol. Chem. 167 (1947) 1
Olsen N. S.
125. Folch J. Zit. n. Quadbeck und Helmchen
Dtsch. med. Wschr. 34 (1957) 1377
126. Knoll AG. Cardiazolmonographie 1951
127. Bock J. Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm.
Bech Larsen R. 81 (1917) 15
128. Meyer-Gottlieb Experimentelle Pharmakologie
(Urban u. Schwarzenberg 1936)
129. Hecht J. Arch. f. exp. Pathol. und Pharm.
Wirth W. 211 (1950) 264
130. Wirth W. Arch. f. exp. Pathol und Pharm.
217 (1953) 144
131. Wirth W. Arch. f. exp. Pathol und Pharm.
207 (1949) 545
132. Holtz P. Arch. f. exp. Pathol und Pharm.
Balzer H. 233 (1958) 438
Westermann E.
133. Schubert R. Dtsch. med. Wschr. 73 (1948) 551
134. Schubert R. Dtsch. med. Wschr. 74 (1949) 1489
135. Schneider A. Zschr. f. ges. Innere Med. 5 (1950) 124
136. Perutz A. Arch. f. exp. Pathol. und Pharm.
Adlersberg D. 151 (1930) 129
137. Adlersberg D. Arch. f. exp. Pathol. und Pharm.
151 (1930) 259
138. Eichhorn O. Wiener klin. Wschr. 69 III (1957) 745
139. Mainzer F. Schw. med. Wschr. 79 (1949) 108
140. Koch D. Klin. Wschr. 33 II (1955) 668
Schnellbächer F.
141. Schnellbächer F. Dtsch. med. Wschr. 80 (1955) 1646
142. Höber R. Physikalische Chemie der Zellen und Gewebe
(Stämpfli-Verl., Bern 1947)
143. Freudenberg K. Organische Chemie S 145
Quelle u. Meyer Verl. Heidelberg 1950

144. Eichholtz F. Lehrbuch der Pharmakologie S. 196 und 235,
Springer-Verl. 1955
145. Kahlau G. Vorlesung WS 58/59
Pathol. Inst. d. Univ. Frankfurt (Main)
146. Taubmann G. Vorlesung WS 58/59
Pharm. Inst. d. Univ. Frankfurt (Main)

Lebenslauf

Am 3. Dezember 1931 wurde ich in Offenbach a. M. als Sohn des Lehrers Wilhelm Friedrich und seiner Ehefrau Maria, geborene Sattler, wohnhaft in Rembrücken Kreis Offenbach a. M., geboren.

Von 1938 bis 1942 besuchte ich die Volksschule in Rembrücken.

Danach trat ich in Offenbach a. M. in die Sexta der Hindenburgschule (Oberschule für Jungen) ein. Während des Krieges wurde diese Schule aufgelöst.

Nach 1945 besuchte ich die Rudolf Koch-Schule (Realgymnasium) in Offenbach a. M.

Nach der Mittleren Reife trat ich am 9. April 1951 in die Maschinenfabrik von Faber & Schleicher in Offenbach ein. Dort wollte ich das Schlosserhandwerk erlernen und später Maschinenbauingenieur werden. Nach der Arbeitszeit bereitete ich mich für die Aufnahmeprüfung an einer Maschinenbauschule vor. Dabei kam mir der Gedanke und der Wunsch, extern das Abitur zu machen.

Kurz entschlossen kündigte ich am 25. 10. 52 mein Lehrverhältnis, besuchte ein dreiviertel Jahr den Abiturvorbereitungskursus von Assessor Adam in Frankfurt a. M. und legte am 21. September 1953 an der Ziehen-Schule in Frankfurt die Nichtschüler-Reifeprüfung ab.

In der Zwischenzeit habe ich den Plan, Ingenieur zu werden, aufgegeben und begann im Wintersemester 1953/54 mein Medizin-Studium an der Johann Wolfgang Goethe Universität in Frankfurt am Main. Dort habe ich 12 Semester Medizin studiert und am 19. März 1960 die ärztliche Prüfung abgelegt.

Horst Friedrich

